



**Ambrósio Luís Gandala Camuenho**

Licenciatura em Química

**Síntese de piridinochalconas e fotoindução quiral  
em  $\beta$ -ciclodextrina**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Química Bioorgânica

**Orientador:** Doutor César António Tonicha Laia,  
Investigador Auxiliar, FCT-UNL.

**Co-orientador:** Doutor António Jorge Dias Parola,  
Professor Associado, FCT-UNL.

**Júri:**

Presidente: Professora Doutora Paula Cristina Cristina de Sérgio Branco

Arguente: Professor Doutor Eurico José da Silva Cabrita

Vogal: Doutor César António Tonicha Laia





**Ambrósio Luís Gandala Camuenho**

Licenciatura em Química

**Síntese de piridinochalconas e fotoindução quiral  
em  $\beta$ -ciclodextrina**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Química Bioorgânica

**Orientador:** Doutor César António Tonicha Laia,  
Investigador Auxiliar, FCT-UNL.

**Co-orientador:** Doutor António Jorge Dias Parola,  
Professor Associado, FCT-UNL.

**Júri:**

Presidente: Professora Doutora Paula Cristina Cristina de Sérgio Branco

Arguente: Professor Doutor Eurico José da Silva Cabrita

Vogal: Doutor César António Tonicha Laia



# **Síntese de piridinochalconas e fotoindução quiral em $\beta$ - ciclodextrina**

Copyright © AMBROSIO CAMUENHO, Faculdade de Ciências e Tecnologia,  
Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

“O mais importante é aprender algo todos os dias”  
(F. Pina)

## **Agradecimentos**

Começo por agradecer aos meus Orientadores Dr. César António Tonicha Laia e Dr. António Jorge Parola, pelo acompanhamento, pela disponibilidade, pela paciência às minhas inúmeras dificuldades e acima de tudo pela motivação.

Agradeço em especial ao Prof. Dr. Fernando Pina que nunca hesitou em apoiar-me sempre, com algum conselho e muita sabedoria, manteve-me sempre motivado e com ânimo para continuar.

Meu MUITO OBRIGADO aos meus pais “Celestino e Luísa Camuenho” mesmo distantes estão comigo, sou o que sou porque tenho os melhores pais e mentores do mundo, desde muito cedo estiveram sempre presentes para me apoiar. Obrigado a toda família e amigos que me acompanharam nessa caminhada mesmo ao de longe.

Agradeço à AEFCT e à FACIT, especialmente à Prof. Dra. Madalena Dionísio, pelo apoio nos momentos mais críticos do meu percurso “muito obrigado por tudo”.

Obrigado a todos colegas do grupo de Fotoquímica pela disponibilidade, solidariedade, pelo espírito de equipa e inclusão. Obrigado Mani, pela ajuda e disponibilidade para a formatação.

Agradeço à Dra. Ana Teresa Lopes, pela paciência, pela disponibilidade e pelo acompanhamento durante a caracterização por RMN.

Obrigado ao grupo de cristalografia especialmente ao Dr. Ramesh Pandian e à Dra. Cecília Bonifácio pela ajuda na obtenção das estruturas dos cristais por cristalografia de raios-X.





## Resumo

O trabalho de investigação levado a cabo para a realização desta dissertação de Mestrado teve como primeiro objetivo sintetizar piridinochalconas fotocrómicas que no estado fotoestacionário apresentem piridinocromenos quirais (hemicetais) como espécie maioritária. O objectivo final é partir de compostos pro-quirais (piridinochalconas) e usar a luz para obtenção de piridinocromenos em excesso enantiomérico recorrendo ao uso de matrizes quirais (interação com recetores quirais ou com solventes quirais). Isto poderá dar origem a novos materiais, com aplicações potenciais em sistemas fotocromicos oticamente ativos.

Foram sintetizados três novos compostos: (*E*)-3-(2-hidroxifenil)-1-(piridin-2-il)prop-2-en-1-ona (2-piridinochalcona, Py2), (*E*)-3-(2-hidroxifenil)-1-(piridin-3-il)prop-2-en-1-ona (3-piridinochalcona, Py3) e (*E*)-3-(4-(*N,N*-dietilamino)-2-hidroxifenil)-1-(piridin-4-il)prop-2-en-1-ona (7-dietilamino-4-piridinochalcona, 7NPy4)). A elucidação estrutural dos compostos sintetizados foi feita por  $^1\text{H}$ - e  $^{13}\text{C}$ -RMN, análise elementar, ESI-MS e por cristalografia de raios-X. A caracterização dos compostos em solução por espectroscopia de absorção no UV/Visível permitiu descrever a rede de reações químicas dos compostos Py2, Py3 e 7NPy4 por variações bruscas de pH. Para alcançar o objectivo final do trabalho, foram seleccionados os compostos Py2, Py3 e Py4 (composto previamente descrito) por serem fotocromicos e no estado fotoestacionário apresentarem o hemicetal quiral como espécie maioritária. Selecionou-se como matriz quiral a  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) que é adequada para encapsular compostos com anéis aromáticos através de interações hidrofóbicas e ligações de hidrogénio. A constante de associação relativa dos compostos com a  $\beta$ -CD tem a seguinte ordem  $\text{Py4} > \text{Py2} > \text{Py3}$  e o composto 7NPy4 não complexou com a  $\beta$ -CD. Por dicroísmo circular observou-se maior atividade ótica no complexo com Py2 que no complexo com Py3 e o complexo com Py4 não tem atividade ótica.

**Palavras chaves:** Piridinochalcona, hemicetal,  $\beta$ -CD, fotoindução quiral, dicroísmo circular, excesso enantiomérico.



## Abstract

The research work carried out for the accomplishment of this Master 's dissertation had as first objective to synthesize photochromic pyridinochalcones that in the photostationary state present chiral pyridinocromenos (hemiketals) as major species. The final objective is to start from prochiral compounds (pyridinochalcones) and use light to obtain enantiomeric excess of pyridinocromenos using chiral matrices (interaction with chiral receptor or with chiral solvents). This may give rise to new materials, with potential applications in optically active photochromic systems.

Three new compounds were synthesized: (*E*)-3-(2-hydroxyphenyl)-1-(pyridin-2-yl)prop-2-en-1-one, (*E*)-3-(2-hydroxyphenyl)-1-(pyridin-3-yl)prop-2-en-1-one and (*E*)-3-(4-(*N,N*-diethylamino)-2-hydroxyphenyl)-1-(pyridin-4-yl) prop-2-en-1-one (7-diethylamino-4-pyridinochalcone, 7NP4)). Structural elucidation of the synthesized compounds was done by <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR, elemental analysis, ESI-MS and by X-ray crystallography. The characterization of the compounds in solution by UV/Visible absorption spectroscopy allowed to describe the network of chemical reactions of the compounds Py2, Py3 and 7NP4 by pH jumps. To reach the final objective of the work, the compounds Py2, Py3 and Py4 (previously described) were selected because they were photochromic and in the photoestationary state they presented the chiral hemiketal as the major species.  $\beta$ -Cyclodextrin ( $\beta$ -CD) was selected as the chiral matrix which is suitable for encapsulating aromatic compounds through hydrophobic interactions and hydrogen bonds. The relative association constant of the compounds with  $\beta$ -CD has the following order Py4 > Py2 > Py3 and compound 7NP4 did not complex with  $\beta$ -CD. Circular dichroism showed greater optical activity in the complexed Py2 than in the Py3 complexed and the Py4 complexed has no optical activity.

**Keywords:** Piridinechalcone, hemiketal,  $\beta$ -CD, chiral photoinduction, circular dichroism, enantiomeric excess.



## Índice

<b>Agradecimentos.....</b>	<b>vii</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>ix</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>xi</b>
<b>Índice de figuras.....</b>	<b>xv</b>
<b>Índice de tabelas.....</b>	<b>xix</b>
<b>Abreviaturas.....</b>	<b>xxi</b>
<b>I. Introdução.....</b>	<b>1</b>
I.1. Quiralidade e atividade ótica .....	1
I.2. Ciclodextrina .....	3
I.3. Dicroísmo circular .....	4
I.4. Fotocromismo chalcona/flavílio .....	6
I.5. Fotoindução de quiralidade .....	8
<b>II. Procedimento experimental .....</b>	<b>9</b>
II.1. Reagentes e solventes .....	9
II.2. Aparelhos e métodos .....	9
II.2.1. Lâmpada de irradiação e filtros .....	9
II.2.2. Espectrofotômetro.....	9
II.2.3. Dicroísmo circular .....	10
II.2.4. Cristalografia de raios-X.....	10
II.2.5. Ressonância magnética nuclear (RMN) .....	11
II.2.6. Análise elementar .....	11
II.2.7. Espectrometria de massa de ionização por electrospray (ESI-MS) .....	11
II.3. Síntese .....	11
II.3.1. Síntese de ( <i>E</i> )-3-(2-hidroxifenil)-1-(piridin-2-il)prop-2-en-1-ona (Py2, 2-piridinochalcona) ....	12
II.3.2. Síntese de ( <i>E</i> )-3-(2-hidroxifenil)-1-(piridin-3-il)prop-2-en-1-ona (Py3, 3-piridinachalcona).....	12
II.2.3. Síntese de ( <i>E</i> )-3-(2-hidroxifenil)-1-(piridin-4-il)prop-2-en-1-ona (Py4, 4-piridinochalcona) ....	13
II.2.4. Síntese de ( <i>E</i> )-3-(4-( <i>N,N</i> -dietilamino)-2-hidroxifenil)-1-(piridin-4-il)prop-2-en-1-ona (7NPy4, 7-dietilamino-4-piridinochalcona).....	13
II.4. Métodos de recristalização .....	14
<b>III. Resultados e discussão .....</b>	<b>15</b>
III.1. Síntese.....	15
III.2. Cristalografia de raios-X.....	16
III.3. Estudos em solução aquosa.....	19
III.3.1. Equilíbrio ácido-base.....	19
III.3.2. Cinética.....	30
III.3.3. Fotocromismo.....	33
III.4. Estudos em solução de $\beta$ -ciclodextrina.....	35
III.5. Dicroísmo circular .....	38
<b>IV. Conclusão .....</b>	<b>41</b>
<b>V. Bibliografia. ....</b>	<b>43</b>
<b>VI. Anexos.....</b>	<b>45</b>
Anexo A .....	45
Anexos B.....	46
Anexo C .....	52



## Índice de figuras

<b>Figura I. 1:</b> Aplicação da regra de Cahn-Ingold-Prelog na fenilglicina. <sup>[3]</sup>	2
<b>Figura I. 2:</b> Exemplo de enantiómeros com atividade biológica diferente. <sup>[3]</sup>	2
<b>Figura I. 3:</b> Representação estrutural da $\alpha$ -CD (a), $\beta$ -CD (b) e $\gamma$ -CD (c). <sup>[7]</sup>	3
<b>Figura I. 4:</b> Estrutura da $\beta$ -CD. <sup>[7]</sup>	4
<b>Figura I. 5:</b> (I) Radiação polarizada no plano. (II) Luz polarizada elipticamente, representada pela linha a tracejado. <sup>[8]</sup>	5
<b>Figura I. 6:</b> Relação espectral entre absorvância e o CD: 1) Composto sem atividade ótica (aquiral ou racêmico); 2) Composto quiral com o estereoisômero L maioritário; 3) Composto quiral com o estereoisômero R maioritário. <sup>[8]</sup>	5
<b>Figura I. 7:</b> Esquema representativo da rede de reações químicas de 4',7-dihidroxiavilíio. <sup>[12]</sup>	6
<b>Figura I. 8:</b> Esquema de reações químicas e fotoquímicas de avilíios sintéticos. <sup>[12]</sup>	6
<b>Figura I. 9:</b> Esquematização do comportamento de três tipos de sistemas fotocromicos: a) Tipo T; b) Tipo P e c) Sistema multiestado. <sup>[14]</sup>	7
<b>Figura I. 10:</b> Ciclo geral <i>escrever-trancar-ler-destrancar-apagar</i> em avilíios sintéticos. <sup>[14]</sup>	8
<b>Figura I. 11:</b> Ciclização fotoquímica do heliceno em solventes quirais. <sup>[17]</sup>	8
<b>Figura III. 1:</b> Mecanismo geral de síntese de piridinochalconas por condensação de salicilaldeído com acetopiridina em meio básico.	15
<b>Figura III. 2:</b> Rede cristalina de Py2.	16
<b>Figura III. 3:</b> Rede cristalina de Py3.	16
<b>Figura III. 4:</b> Rede cristalina de 7NPy4.	17
<b>Figura III. 5:</b> Equilíbrios termodinâmicos em soluções MeOH/H <sub>2</sub> O (1: 1 v/v) do composto 4-piridinochalcona. <sup>[21]</sup>	19
<b>Figura III. 6:</b> Espectros de absorção do composto Py2 (3,8.10 <sup>-5</sup> M em CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O (1:1 v/v): a) Espectros imediatos após o salto de pH na gama de 1,38 – 11,96; b) Espectros equilibrados no escuro na faixa de pH de 1,38 – 7,98 (10 dias, 294±2 K); c) Espectros das espécies individuais.	20
<b>Figura III. 7:</b> Conjunto de reações químicas do composto Py2 em CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O (1:1 v/v).	20
<b>Figura III. 8:</b> Espectros <sup>1</sup> H NMR (400 MHz, 300K, CD <sub>3</sub> OD/D <sub>2</sub> O 1:1) do composto Py2: a) Logo após o salto de pD=5,6 a pD=0,5 observa-se 100% de Ct <sup>+</sup> ; b) Mesma solução equilibrada no escuro em 54 horas observa-se maioritariamente A <sup>+</sup> ; c) Solução a pD= 5,6 mantida no escuro por 2 dias apresenta quantidade superior de 95% de Ct; d) 5 minutos após o salto de pD=5,6 a pD=12,5 é observado Ct <sup>-</sup> maioritariamente.	21

- Figura III. 9:** Equilíbrios termodinâmicos de 8,9 mM de Py2 em  $\text{CD}_3\text{OD}:\text{D}_2\text{O}$  (1: 1 v/v) pD = 0,5. 22
- Figura III.10:** Espectros de absorção do composto Py3 ( $3,8 \cdot 10^{-5}\text{M}$  em  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v): **a)** Espectros imediatos após o salto de pH na gama de 0,4 – 11,96; **b)** Mesmos espectros equilibrados no escuro (30h,  $294 \pm 2$  K); **c)** Espectros das espécies individuais. 23
- Figura III. 11:** Espectros  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 300K,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  1:1) do composto Py3: **a)** Logo após o salto de pD=6,6 a pD=1, observa-se 100% de  $\text{Ct}^+$ ; **b)** Mesma solução equilibrada no escuro em 5 dias apresenta 14,5%  $\text{Cc}^+$  ( $\square$ ); 14,5%  $\text{B}^+$  ( $\blacksquare$ ); 71%  $\text{Ct}^+$  ( $\odot$ ); **c)** Solução a pD= 6,6 mantida no escuro por 5 dias apresenta quantidade superior de 95% de  $\text{Ct}$ . 24
- Figura III. 12:** Equilíbrios termodinâmicos em soluções  $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$  (1:1) do composto Py3. 24
- Figura III. 13:** Espectros de absorção do composto 7NPy4 ( $3,8 \cdot 10^{-5}\text{M}$  em  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v): **a)** Espectros imediatos após o salto de pH na gama de 0,4 – 11,96; **b)** Mesmos espectros equilibrados no escuro (30h,  $294 \pm 2$  K); **c)** Espectros das espécies individuais. 25
- Figura III. 14:** Equilíbrios termodinâmicos em soluções  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) do composto 7Npy4. 26
- Figura III. 15:** Espectros  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 300K,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  1:1),  $1,7 \cdot 10^{-3}\text{M}$  do composto 7NPy4: **a)** Solução a pD = 0,5 equilibrada no escuro (70 min,  $292 \pm 2^\circ\text{K}$ ) está constituída por 27%  $\text{B}^{2+}$  ( $\blacksquare$ ),  $\text{Cc}^{2+}$  ( $\square$ ), 10%  $\text{Ct}^{2+}$  ( $\odot$ ) e 63% de  $\text{AH}^{2+}$  ( $\blacklozenge$ ); **b)** Solução a pD = 3,6 equilibrada no escuro (70 min,  $292 \pm 2^\circ\text{K}$ ) observa-se 44%  $\text{Ct}^+$  ( $\odot$ ) e 56%  $\text{AH}^{2+}$  ( $\blacklozenge$ ); **c)** A solução a pD = 6,5 não evolui para outras espécies, apresenta 100% de  $\text{Ct}$ ; **d)** Solução a pD = 13 com 100% de  $\text{Ct}^-$  degrada ao fim de 7 dias. 27
- Figura III. 16:** Multiplicidade dos sinais dos metis e metilenos no  $\text{AH}^{2+}$  do composto 7NPy4. 28
- Figura III. 17:** Distribuição das frações molares das espécies, a pontilhado esta representado o pseudo-equilíbrio que é logo após o salto de pH e as linhas a cheio representam o equilíbrio térmico no escuro: **a)** Fração molar de Py2; **b)** Fração molar de Py3; **c)** Fração molar de 7NPy4. 30
- Figura III. 18:** Evolução de  $4,3 \cdot 10^{-5}\text{M}$  de Py2 em  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) no escuro à temperatura ambiente. **a)** Solução a pH=6,21; **b)** Solução a pH=1,31. 31
- Figura III. 19:** Evolução de  $8,9 \cdot 10^{-2}\text{M}$  de Py2 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) Salto de pD=6,6 para pD=0,5 seguida por  $^1\text{H}$  RMN no escuro,  $\text{A}^+$  ( $\blacklozenge$ ) e  $\text{Ct}^+$  ( $\odot$ ). 31
- Figura III. 20:** Cinética de formação do catião flavílio ( $\text{AH}^{2+}$ ) seguida a um comprimento de onda: ( $\odot$ ) a pH=0,5 seguida a 533 nm; ( $\blacksquare$ ) a pH=4,15 seguida 320 nm. 32
- Figura III. 21:** Evolução de  $1,7 \cdot 10^{-2}\text{M}$  de 7NPy4 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) seguida por  $^1\text{H}$  RMN: **a)** Salto de pD=6,5 para pD=0,5.  $\text{B}^{2+}$  ( $\blacksquare$ ),  $\text{Cc}^{2+}$  ( $\square$ ),  $\text{Ct}^{2+}$  ( $\odot$ ) e  $\text{AH}^{2+}$  ( $\blacklozenge$ ); **b)** Salto de pD 6,5 para pD 3,6.  $\text{Ct}^+$  ( $\odot$ ) e  $\text{AH}^{2+}$  ( $\blacklozenge$ ). 32
- Figura III. 22:** Recuperação térmica (no escuro), seguida por  $^1\text{H}$  RMN de 17 mM de Py2 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) a pD=5,6. Irradiação continua a 365 nm durante 1 hora.  $\text{B}$  ( $\blacksquare$ ),  $\text{Cc}$  ( $\square$ ) e  $\text{Ct}$  ( $\odot$ ). 33



<b>Figura III. 23:</b> Variação espectral de $4 \times 10^{-5}$ M de Py3 em CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O (1:1 v/v), irradiação a 360 nm: <b>a)</b> Irradiação da solução a pH=1,31; <b>c)</b> Irradiação da solução a pH=6,5; <b>b)</b> e <b>d)</b> Recuperação térmica (no escuro) das soluções a pH=1,31 e pH=6,5, respectivamente.	<b>34</b>
<b>Figura III. 24:</b> Ciclo geral escrever-ler-apagar em Piridinochalconas Py2 e Py3.	<b>34</b>
<b>Figura III. 25:</b> Associação da Ct com a $\beta$ -CD. <sup>[10]</sup>	<b>35</b>
<b>Figura III. 26:</b> Variação da absorção de $4,4 \cdot 10^{-5}$ M de Ct em função da concentração de $\beta$ -ciclodextrina em CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O (0,05:0,95): <b>a)</b> Py2 pH=5,5; <b>b)</b> Py3 pH=6,6; <b>c)</b> Py4 pH=6,6.	<b>35</b>
<b>Figura III. 27:</b> Fotoquímica em presença de $\beta$ -CD.	<b>36</b>
<b>Figura III. 28:</b> Fotoquímica com adição de $\beta$ -CD depois da irradiação.	<b>36</b>
<b>Figura III. 29:</b> Espectros de <sup>1</sup> H RMN de 8,9 mM de Py2 em CD <sub>3</sub> OD/D <sub>2</sub> O (1:1 v/v) irradiado a 365 nm; <b>a)</b> Espectro da solução irradiada em presença de $\beta$ -CD; <b>b)</b> Espectro da solução em que a $\beta$ -CD foi adicionada a solução equilibrada de B; <b>c)</b> Espectro da solução (b) 24 h no escuro, referência para identificar as espécies: B (■), Cc (□), Ct (○).	<b>37</b>
<b>Figura III. 30:</b> Espectros de <sup>1</sup> H RMN de 8,9 mM de Py3 em CD <sub>3</sub> OD/D <sub>2</sub> O (1:1 v/v) irradiado a 365 nm; <b>a)</b> Espectro da solução irradiada em presença de $\beta$ -CD; <b>b)</b> Espectro da solução em que a $\beta$ -CD foi adicionada à solução equilibrada de B; <b>c)</b> Espectro da solução (b) 24 h no escuro, referência para identificar as espécies: B (■) e Cc (□).	<b>37</b>
<b>Figura III. 31:</b> Espectros de <sup>1</sup> H RMN de 8,9 mM de Py4 em CD <sub>3</sub> OD/D <sub>2</sub> O (1:1 v/v) irradiado a 365 nm; <b>a)</b> Espectro da solução irradiada em presença de $\beta$ -CD; <b>b)</b> Espectro da solução em que a $\beta$ -CD foi adicionada a solução equilibrada de B; <b>c)</b> Espectro da solução (b) 24 h no escuro, referência para identificar as espécies: B (■) e Ct (○).	<b>38</b>
<b>Figura III. 32:</b> Espectros de CD com a $\beta$ -CD antes (vermelho) e depois (azul) da irradiação continua a 365 nm durante 45 minutos: <b>a)</b> Py2; <b>b)</b> Py3; <b>c)</b> M Py4.	<b>39</b>
<b>Figura III. 33:</b> Estruturas dos enantiômeros (S) e (R) do composto Py2.	<b>39</b>
<b>Figura III. 33:</b> Espectros de absorção (azul) e dicroísmo circular (vermelho) de $1,1 \cdot 10^{-4}$ M de Py4 em CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O (0,05:0,95 v/v), espectros obtidos no Chirascan v.4.5.1752.0 Build em simultâneo.	<b>40</b>

<b>Figura A. 1:</b> Estrutura cristalina do composto Py4.	<b>45</b>
---	-----------

<b>Fugura B. 1:</b> Espectros de <sup>1</sup> H RMN de 2-Piridinachalcona 17 mM em CD <sub>3</sub> OD. a) irradiado a 365 nm durante 2h (41%(□)Cc e 59%(■)B). b) equilibrado no escuro 100% B.	<b>46</b>
<b>Fugura B. 2:</b> Espectros de <sup>1</sup> H RMN de 17 mM de Py3 em CD <sub>3</sub> OD. a) irradiado a 365 nm durante 2h (75%(□)Cc e 25%(■)B). b) equilibrado no escuro 100% B	<b>48</b>

**Figura B. 3:** Espectros de  $^1\text{H}$  RMN de 4-Piridinachalcona 17 mM: a) Ct em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v pD=6,6); b) B em  $\text{CD}_3\text{OH}$ .

50

**Figura C. 1:** Evolução da  $\text{Ct}^+$  ao flavílio: **a)** Após o salto de pD observa-se ~100% de  $\text{Ct}^+$ . **b)** Passadas 30h é possível identificar as espécies  $\text{A}^+$  (◆) e  $\text{Ct}^+$  (●). **c)** Solução na ausência da luz em 54 horas observa-se maioritariamente  $\text{A}^+$

52

**Figura C. 2:** Evolução de 17 mM de 7NPy4 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) a pD=0,5. **a)** Instante inicial após o salto de pD=6,5 para pD=0,5. **b)** e **c)** Estados intermédios  $\text{B}^{2+}$  (■),  $\text{Cc}^{2+}$  (□),  $\text{Ct}^{2+}$  (●) e  $\text{AH}^{2+}$  (◆). **d)** Equilíbrio térmico.

53

**Figura C. 3:** Formação de  $\text{AH}^{2+}$  (◆) a partir de  $\text{Ct}^+$  (●).

54

**Figura C. 4:** Recuperação térmica (no escuro) seguida por  $^1\text{H}$  RMN após a irradiação de 17 mM de Py2. **a)** Estado fotoestacionária composto por 41%B (■), 45%Cc (□) e 14%Ct (●). **b)** e **c)** Estados intermédios apresentam as espécie envolvidas no processo, B (■), Cc (□) e Ct (●). **d)** Equilíbrio térmico apresenta maioritariamente a Ct.

55

**Figura D. 1:** Espectros de dicroísmo circular dos compostos: a) Py2; b) Py3 e c) Py4.

56

## Índice de tabelas

<b>Tabela I. 1:</b> : Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas. <sup>[7]</sup>	<b>3</b>
<b>Tabela III.1:</b> Dados cristalográficos para os compostos estudados.	<b>18</b>
<b>Tabela III.2:</b> Valores de $pK_a$ dos compostos logo após os saltos de pH.	<b>28</b>
<b>Tabela III.3:</b> Valores de $pK_a$ observados das soluções equilibradas dos compostos.	<b>29</b>
<b>Tabela B. 1:</b> Atribuições de $^1H$ e $^{13}C$ RMN para Py2 em solução de $CD_3OD/D_2O$ a $pD=5,6$ (B foi em $CD_3OD$ ).	<b>47</b>
<b>Tabela B. 2</b> Atribuições de $^1H$ e $^{13}C$ RMN para 3-Piridinachalcona em solução de MeOD a $pD=6,6$ , Os espectros foram corridos a 300,0K, a 400 Hz ( $^1H$ ) e 100 Hz ( $^{13}C$ ).	<b>49</b>
<b>Tabela B. 3:</b> Atribuições de $^1H$ e $^{13}C$ RMN para 4-Piridinachalcona em solução de MeOD a $pD=6,6$ , Os espectros foram corridos a 300,0K, a 400 Hz ( $^1H$ ) e 100 Hz ( $^{13}C$ ).	<b>50</b>
<b>Tabela B. 4:</b> Atribuições de $^1H$ e $^{13}C$ RMN para 7-( <i>N,N</i> -dietilamina)-4-Piridinachalcona em solução de MeOD a $pD=6,6$ , Os espectros foram corridos a 300,0K, a 400 Hz ( $^1H$ ) e 100 Hz ( $^{13}C$ ).	<b>51</b>



## Abreviaturas

A	Base quinoidal
A <sup>+</sup>	Catão flavílio
AH <sup>2+</sup>	Catão flavílio protonado
AH <sub>2</sub> <sup>3+</sup>	Catão flavílio biprotonado
AE	Análise elementar
B	Hemicetal
B <sup>+</sup>	Hemicetal monoprotonado
B <sup>2+</sup>	Hemicetal biprotonado
ca	Cerca
Cc	<i>Cis</i> -chalcona
Cc <sup>-</sup>	<i>Cis</i> -chalcona ionizada
Cc <sup>+</sup>	<i>Cis</i> -chalcona monoprotonada
Cc <sup>2+</sup>	<i>Cis</i> -chalcona biprotonada
CD	Dicroísmo circular
CDI	Dicroísmo circular induzido
Ct	<i>Trans</i> -chalcona
Ct <sup>+</sup>	<i>Trans</i> -chalcona monoprotonada
Ct <sup>2+</sup>	<i>Trans</i> -chalcona biprotonada
Ct <sup>-</sup>	<i>Trans</i> -chalcona ionizada
Ct*	<i>Trans</i> -chalcona no estado excitado
(Cc + B)*	<i>Cis</i> -chalcona e hemicetal no estado excitado
<sup>13</sup> C-RMN	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
COSY	Espectroscópica de correlação
d	Dupleto
dd	Dupleto de dupleto
ddd	Dupleto de dupleto de dupleto

dt	Dupleto de tripleto
ee	Excesso enantiomérico
ESI-MS	Espectrometria de massa com ionização por electrospray
<sup>1</sup> H-RMN	Ressonância magnética nuclear de protão
HMBC	Correlação heteronuclear com múltiplas ligações
HSQC	Correlação heteronuclear de ligações simples
J	Constante de acoplamento escalar
$K_{\text{ass}}$	Constante de equilíbrio da associação da piridinochalcona com a $\beta$ -ciclodextrina
$k_i$	Constante de velocidade da reação de isomerização da <i>cis</i> -chalcona à <i>trans</i> -chalcona
$K_i$	Constante de equilíbrio da reação de isomerização da <i>cis</i> -chalcona à <i>trans</i> -chalcona
$k_t$	Constante de velocidade da reação de tautomerização do hemicetal à <i>cis</i> -chalcona
$K_t$	Constante de equilíbrio da reação de tautomerização do hemicetal à <i>cis</i> -chalcona
$k_h$	Constante de velocidade da reação de hidratação do catião flavílio ao hemicetal
$K_h$	Constante de equilíbrio da reação de desidratação do hemicetal ao catião flavílio
$k_a$	Constante de velocidade da reação de dissociação da base quinoidal ao catião flavílio
$K_a$	Constante de equilíbrio da reação de dissociação da base quinoidal ao catião flavílio
m	Multipleto
Py2	2-Piridinochalcona
Py3	3-Piridinochalcona
Py4	4-Piridinochalcona
RMN	Ressonância magnética nuclear
s	Singuleto
TLC	Cromatografia de camada fina
td	Tripleto de dubleto
UV	Ultravioleta
$x_i$	Fração molar da espécie i
$\Delta A$	Diferença da absorção da luz polarizada
$A_L$	Absorção da luz polarizada para a esquerda

$A_R$	Absorção da luz polarizada para a direita
$\alpha$ -CD	Alfa-ciclodextrina
$\beta$ -CD	Beta-ciclodextrina
$\gamma$ -CD	Gama-ciclodextrina
$\epsilon$	Absortividade molar
$\lambda$	Comprimento de onda
7NPy4	7-( <i>N,N</i> -dietilamino)-4-piridinochalcona





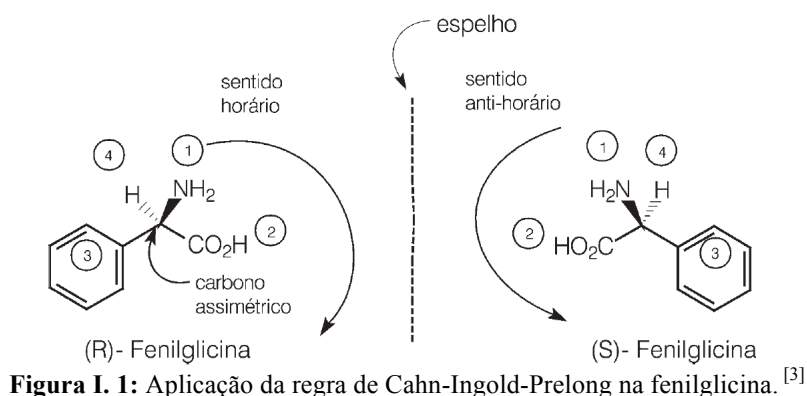
## I. Introdução

O objectivo deste trabalho foi a obtenção de cromenos com atividade ótica (excesso enantiomérico de um dos estereoisómeros). Para atingir os objetivos deste trabalho foi escolhido o sistema fotocromico piridinochalcona (pró-quiral) – hemiacetal (quiral) e  $\beta$ -CD como matriz quiral para tentar induzir a formação preferencial de excesso enantiomérico para um dos estereoisómeros, através de reações fotoquímicas reversíveis.

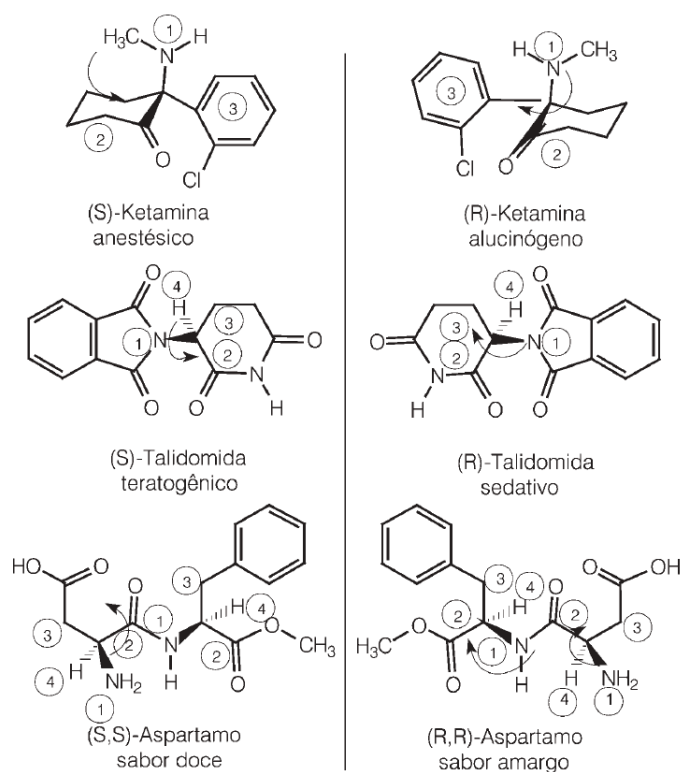
### I.1. Quiralidade e atividade ótica

A quiralidade é um atributo geométrico, sendo uma substância quiral quando a sua estrutura não pode ser sobreposta à sua imagem especular. A quiralidade é uma propriedade molecular relacionada com a ausência na molécula de um elemento de simetria refletivo que pode ser um plano ( $\sigma$ ) ou um centro de simetria ( $i$ ); pode no entanto conter elementos de simetria rotacionais (eixos de simetria  $C_n$ ).<sup>[1],[2],[3]</sup>

A quiralidade e a atividade ótica têm uma relação de interdependência absoluta, isto é, só os enantiómeros têm atividade ótica e somente os compostos quirais têm enantiómeros (para cada composto quiral existem 2 enantiómeros).<sup>[4],[5]</sup> Cada enantiómero exibe atividade ótica diferente, isto é, eles possuem propriedades físicas e químicas idênticas exceto a rotação da luz polarizada em sentidos opostos. O isómero que desvia o plano da luz polarizada no sentido contrário ao do ponteiro do relógio é chamado de isómero levógiro e é designado por -, enquanto que o que gira o plano para o sentido horário é chamado de isómero destrógiro e é designado por +. D e L (escrevem-se num tamanho inferior ao texto) são designações frequentemente usadas para a estereoquímica de carboidratos e aminoácidos segundo a regra de prioridade de Cahn-Ingold-Prelog: 1º, dá-se prioridade ao átomo de maior número atômico ligado ao carbono assimétrico, se forem átomos iguais a prioridade é para o que estiver ligado a átomos de maior numero atômico e por último é o hidrogénio. 2º, orienta-se a molécula de forma a que o último grupo na ordem das prioridades esteja em posição oposta ao observador. Por último, ao deslocar-se do primeiro grupo para o segundo e deste para o terceiro na ordem de prioridades, se o movimento for no sentido horário a configuração é designada D, e se o movimento for no sentido antihorário a configuração denomina-se L. R e S são designações usadas para a atribuição da configuração absoluta segundo a regra de prioridade de Cahn-Ingold-Prelog, se o movimento for no sentido horário a configuração é designada R, e se o movimento for no sentido antihorário a configuração denomina-se S, cf. Figura I.1.<sup>[3]</sup>



A importância de se obter compostos com elevado excesso enantiomérico (puros pela atividade ótica) surge da necessidade de se evitar os efeitos secundários causados pelo estereoisômero de configuração oposta ao do enantiômero com atividade biológica desejada. A figura I.2.<sup>[3]</sup> apresenta as propriedades farmacológicas e efeitos secundários que os enantiômeros têm ao interagirem com o sistema biológico.



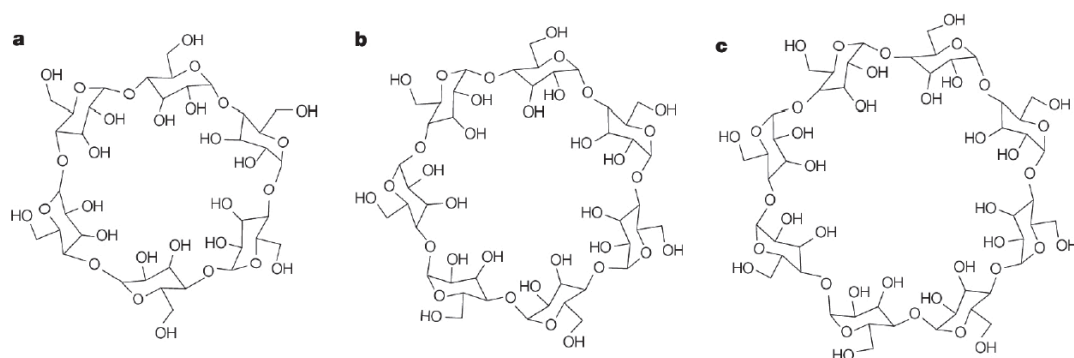
**Figura I. 2:** Exemplo de enantiômeros com atividade biológica diferente. <sup>[3]</sup>

Depois de reportada a tragédia de 1961, ocorrida com a comercialização da talidomida como mistura racêmica para o tratamento de náuseas. Sem o conhecimento de que o estereoisômero S era teratogênico (causador de má formação congênita) provocou o nascimento de 12.000 crianças com defeitos físicos sem contar os nados mortos.<sup>[2]-[5]</sup> Esta

tragédia impulsionou o desenvolvimento de técnicas e meios para a obtenção do composto com a atividade biológica desejada.

## I.2. Ciclodextrina

As ciclodextrinas foram descobertas em 1891 por Villiers e isoladas por recristalização por Schardinger pela primeira vez, em 1903.<sup>[6]</sup> As ciclodextrinas são polímeros de estruturas de unidade de glicopiranosose, que estabelecem entre si ligações do tipo  $\alpha$ -(1,4) formando uma cavidade hidrofóbica que permite formar complexos de inclusão estáveis. Existem maioritariamente  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD e  $\gamma$ -CD com 6, 7 e 8 unidades de glicose, respectivamente, cf. Figura I.3.<sup>[6], [7]</sup>



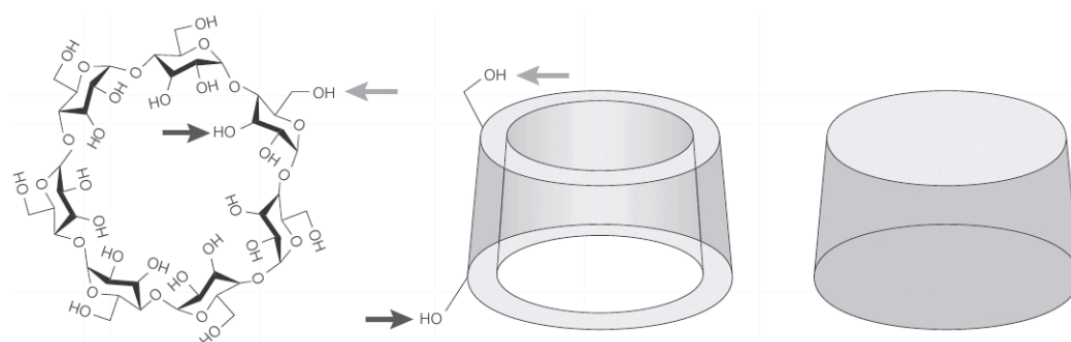
**Figura I. 3:** Representação estrutural da  $\alpha$ -CD (a),  $\beta$ -CD (b) e  $\gamma$ -CD (c).<sup>[7]</sup>

As propriedades físico-químicas das ciclodextrinas estão resumidas na tabela I.1.<sup>[7]</sup>

**Tabela I. 1:** : Propriedades físico-químicas das ciclodextrinas.<sup>[7]</sup>

CD	Nº de unidades de glicose	Peso molecular	Diâmetro interno da cavidade (Å)	Volume da cavidade (Å <sup>3</sup> )	Solubilidade aquosa a 25°C (% m/v)
$\alpha$ CD	6	972	4,7-5,3	174	14,5
$\beta$ CD	7	1135	6,0-6,5	262	1,85
$\gamma$ CD	8	1297	7,5-8,3	427	23,2

Em 1996, Loftsson e Brewster afirmaram descobriram que dada a ausência de rotações das ligações glicosídicas, a conformação em cadeia das unidades de glicose apresenta uma estrutura tronco-cônica, em que o cone é formado pelo esqueleto de carbonos e oxigénios, cf. Figura I.4.<sup>[7]</sup>



**Figura I. 4:** Estrutura da  $\beta$ -CD.<sup>[7]</sup>

As ciclodextrinas são bastantes solúveis em água e com solubilidade reduzida em solventes orgânicos por causa da hidrofilia proporcionada pelos grupos hidroxilo posicionados externamente. No entanto, o interior da cavidade tem características hidrofóbicas o que permite a encapsulação de compostos apolares.<sup>[7]</sup>

Para este trabalho escolheu-se a  $\beta$ -CD por ela apresentar uma cavidade adequada para alojar anéis aromáticos. Podem-se ter duplas interações, isto é, a piridinochalcona pode complexar por ponte de hidrogénio com a zona hidrofílica e/ou por forças de Van Der Waals (os anéis aromáticos com a zona hidrofóbica).

### I.3. Dicroísmo circular

O Dicroísmo Circular (CD) é uma técnica de espectropolarimetria extensivamente usada para estudar quiralidade. O CD mede a diferença da absorção da luz polarizada para a esquerda (L) e para a direita (R), dos cromóforos que possuem quiralidade ou estão localizados em ambientes quirais, cf. Equações I.1. A diferença da absorvância é expressa em  $\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$ .<sup>[8],[9]</sup>

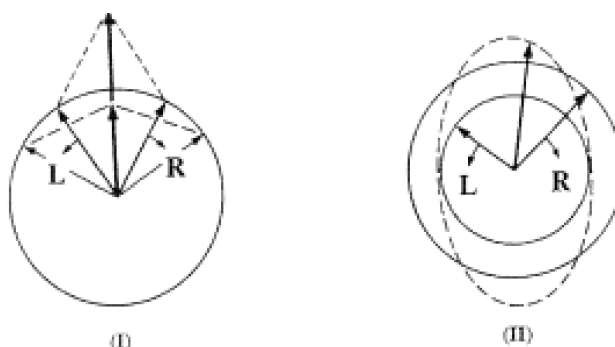
$$\Delta A = A_L - A_R \quad (\text{I.1})$$

Os resultados são expressos em elipticidade molar  $[\theta]$  (equação I.2), onde  $\theta$  é a elipticidade em graus,  $l$  é o percurso ótico em cm,  $C$  é a concentração em  $\text{mol dm}^{-3}$ ,  $M$  é a massa molecular. Portanto,  $[\theta]$  tem unidades de  $\text{grau} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$  (que é o mesmo que  $\text{grau} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{dmol}^{-1}$ ).<sup>[9]</sup>

$$[\theta] = (\theta \cdot 100 \cdot M) / (C \cdot l) \quad (\text{I.2})$$

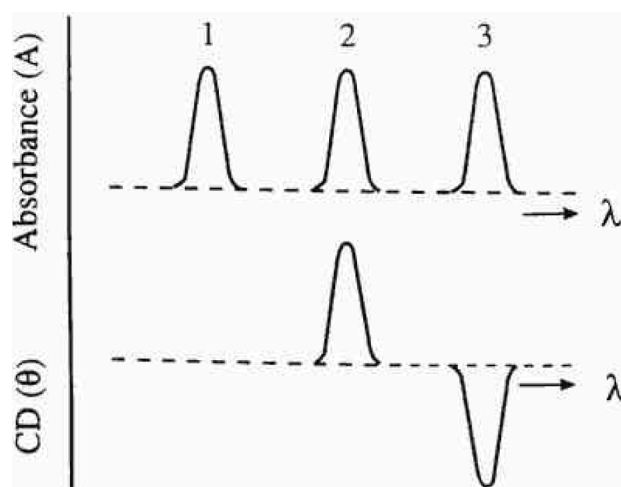
Após a passagem da radiação polarizada sobre a amostra, podem acontecer 3 situações. Se não houver absorção ou se a absorção for na mesma proporção para as duas

componentes da luz polarizada (L e R), quando combinadas geram radiação polarizada no plano (o sinal de CD será nulo), cf. Figura I.5.(I). Se a absorção de uma das componentes for maior que a outra, gera-se uma radiação elipticamente polarizada, cf. Figura I.5.(II).<sup>[8]</sup>



**Figura I. 5:** (I) Radiação polarizada no plano. (II) Luz polarizada elipticamente, representada pela linha a tracejado.<sup>[8]</sup>

A figura I.6.<sup>[8]</sup> ilustra os cromóforos detectados por absorvância UV/Vis que podem ou não ser detectados por CD. O sinal apresentado por CD é dependente do *ee*, o estereoisômero maioritário é que será detectado.

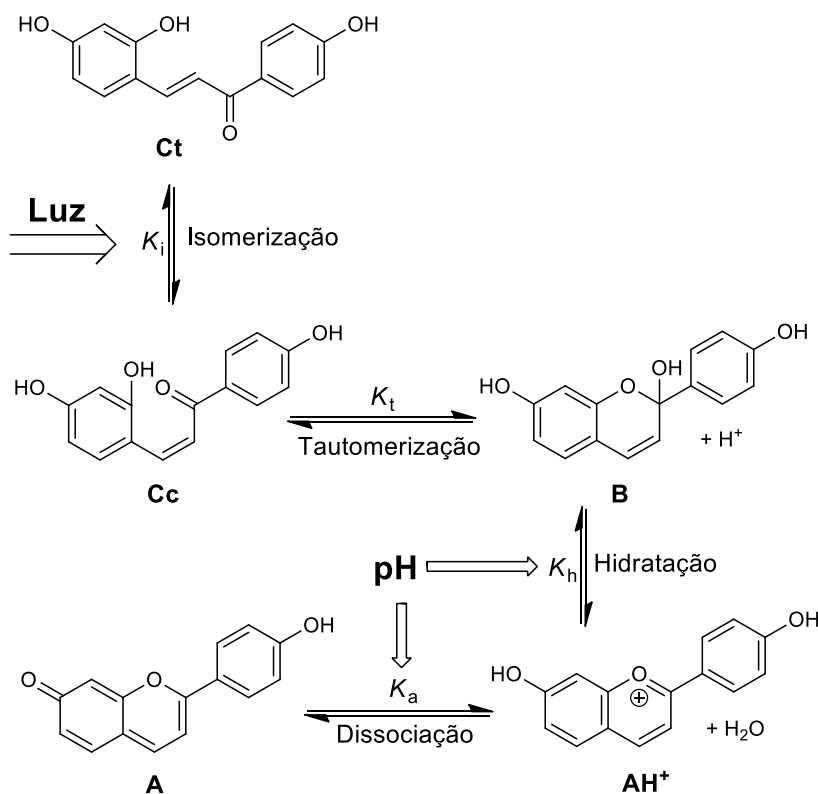


**Figura I. 6:** Relação espectral entre absorvância e o CD: **1)** Composto sem atividade ótica (aquiral ou racêmico); **2)** Composto quiral com o estereoisômero L maioritário; **3)** Composto quiral com o estereoisômero R maioritário.<sup>[8]</sup>

O primeiro sinal de dicroísmo circular induzido da Ct complexada com a  $\beta$ -CD foi observado e descrito por S. Gago *et al.*<sup>[10]</sup> No trabalho desta tese usou-se dicroísmo circular para observar qualitativamente a atividade ótica resultante da fotoindução quiral em complexos das piridinochalconas com a  $\beta$ -CD após irradiação das mesmas para obter hemicetais quirais.

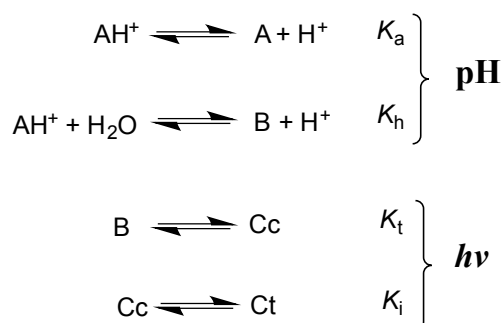
#### I.4. Fotocromismo chalcona/flavílio

Os flavílios são compostos químicos pertencentes à classe das antocianinas que por ação da luz e/ou pH possuem uma complexa rede de equilíbrios multiestado. <sup>[11],[12]</sup> A figura I.7 apresenta a rede de reações químicas do composto 4',7-dihidroxiavilíio. Observam-se 5 espécies: base quinoidal (A), catião do flavílio (A<sup>+</sup>), hemiacetal (B), *cis*-chalcona (Cc) e *trans*-chalcona (Ct) .



**Figura I. 7:** Esquema representativo da rede de reações químicas de 4',7-dihidroxiavilíio. <sup>[12]</sup>

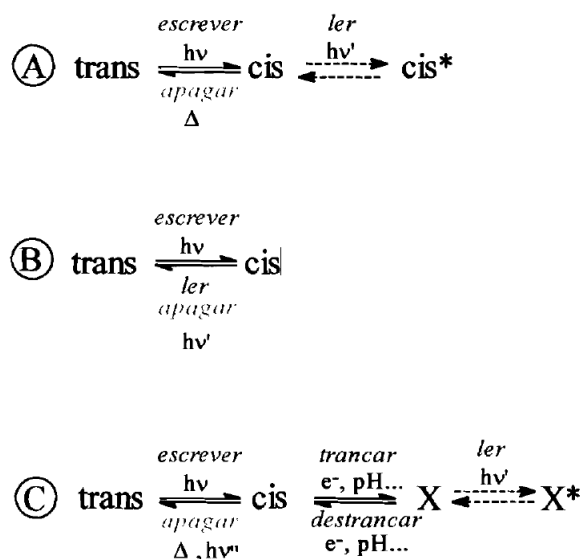
A figura I.8 apresenta a divisão da rede de reações químicas de flavílios sintéticos controlada por dois estímulos externos (radiação e pH). <sup>[12]</sup>



**Figura I. 8:** Esquema de reações químicas e fotoquímicas de flavílios sintéticos. <sup>[12]</sup>

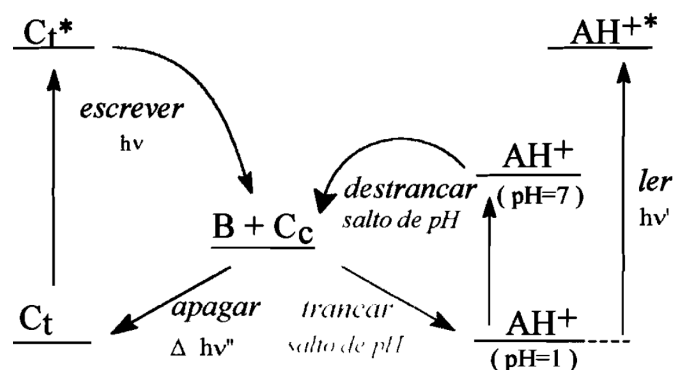
O fotocromismo foi reconhecido pela primeira vez em 1899, por Markwald. Espécies interconvertíveis por ação da luz é que constituem os compostos fotocromicos, isto é, o fotocromismo é o fenómeno de mudança de uma substância por absorção de radiação para outra fotoquimicamente estável que a partir da qual reverte para o estado inicial termicamente ou por absorção de radiação a diferente comprimento de onda.<sup>[13]</sup>

Os sistemas fotocromicos são classificados em função da maneira que revertem ao estado inicial. A figura I.9. apresenta as diferentes classificações para os sistemas fotocromicos. Os que revertem para o estado inicial termicamente no escuro são classificados como do tipo T ( Figura I.9.a). Os que não revertem termicamente ao estado inicial mas, que sofrem reações fotoquímicas a outro comprimento de onda são classificados como do tipo P (Figura I.9.b). Figura I.9.c. apresenta um processo reversível controlado por dois estímulos externos (luz e pH) que podem criar mais do que um estado estável, são classificados por sistemas multiestado.<sup>[14],[15]</sup>



**Figura I. 9:** Esquematização do comportamento de três tipos de sistemas fotocromicos: a) Tipo T; b) Tipo P e c) Sistema multiestado.<sup>[14]</sup>

O principal requisito para a construção de dispositivos de memória ótica é a existência de dois estados estáveis. Portanto, *escrever* consiste na irradiação ao comprimento de onda em que o estado original absorve, *ler* é a detecção da formação do novo estado e *apagar* é a recuperação do material de partida. A figura I.10 apresenta um sistema de memória ótica multiestado de flavílios sintéticos.<sup>[14]-[16]</sup>

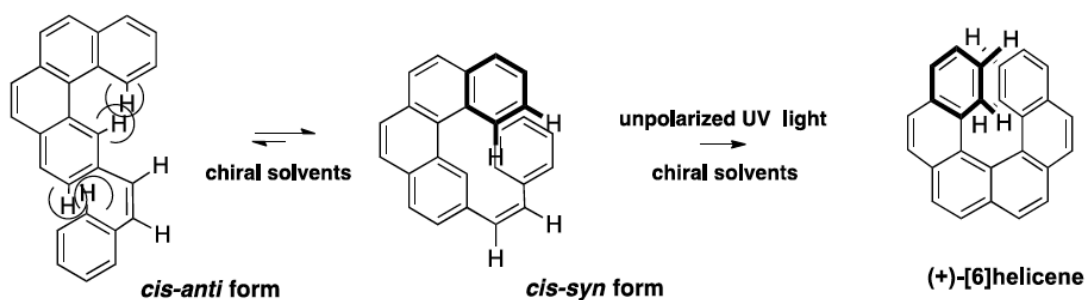


**Figura I. 10:** Ciclo geral *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar* em flavílios sintéticos.<sup>[14]</sup>

Os testes realizados para esta dissertação visaram descrever um sistema de ciclos *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*, no qual o passo *escrever* consiste na irradiação da Ct, *ler* será a detenção do B e *apagar* será a recuperação da Ct.

### I.5. Fotoindução de quiralidade

As tentativas de indução quiral em reações de ciclização fotoquímica remontam a 1970 por Kagan *et al.* Chamaram de síntese assimétrica absoluta para precursores oticamente inativos em solventes aquirais (benzeno) irradiados por luz polarizada para obter uma solução de heliceno não racêmica, mas com menos de 1% de *ee*. A mesma experiência de ciclização fotoquímica de precursores oticamente inativos quando dissolvidos em solventes quirais permitiu obter 0,2 – 2,1 % de *ee* após irradiação, cf. Figura I.11. Os autores explicaram que a interação CH/ $\pi$  com o solvente quiral favorece a formação preferencial de um dos enantiômeros.<sup>[17]</sup>



**Figura I. 11:** Ciclização fotoquímica do heliceno em solventes quirais.<sup>[17]</sup>

Nesta ordem de ideias para alcançar o objectivo principal desta dissertação, pretende-se sintetizar piridinochalconas, caracterizá-las em solução e com auxílio de um recetor quiral ( $\beta$ -CD) fotoinduzir a formação de composto quiral oticamente ativo.



## **II. Procedimento experimental**

### **II.1. Reagentes e solventes**

Os reagentes e solventes utilizados são de grau analítico. 2-Acetilpiridina (Alfa Aesar, 98%), 3-Acetilpiridina (Acros, 98%), 4-Acetilpiridina (Aldrich), salicilaldeído (Fluka, 98%) e *N,N*-dietilaminosalicilaldeído (BDH, 99%). Os reagentes e solventes utilizados não foram sujeitos a purificação antes da sua utilização. A água normalmente utilizada para preparar as soluções era bi-destilada e desionizada numa aparelhagem Millipore Simplicity.

### **II.2. Aparelhos e métodos**

Neste subcapítulo serão apresentados os materiais bem como a descrição das técnicas e métodos que serviram de suporte para alcançar os objetivos.

#### **II.2.1. Lâmpada de irradiação e filtros**

Para a irradiação foi utilizada a lâmpada de xénon e mercúrio de 200W, controlada por uma unidade Newport 69907. Utilizou-se o filtro band pass Semrock - MaxLamp™ para isolar o comprimento de onda (365 nm).

#### **II.2.2. Espectrofotómetro**

Para obtenção dos espectros de absorção foi utilizado um espectrofotómetro Varian-Cary 100 Bio ou Varian-Cary 5000. A temperatura no porta-células é cerca de 2°C superior à temperatura exterior mantida a  $19\pm 2^\circ\text{C}$ , foram utilizadas células de plástico (Plastibrand®) ou quartzo, com 1 cm de percurso ótico.

De modo geral as soluções concentradas das diversas piridinochalconas foram preparadas por dissolução de 1 a 2 mg de composto em MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) de modo a obter concentração de  $10^{-4}\text{M}$ , sendo armazenadas no escuro.

As soluções foram tamponizadas usando o tampão universal de Britton-Robinson.<sup>[18]</sup> Foram preparados tampões na gama  $1,06 < \text{pH} < 12,03$  por adição de hidróxido de sódio e ácido clorídrico.

Os saltos de pH foram feitos por diluição de 1 mL de solução concentrada em 1 mL de metanol e 1 mL de uma mistura de tampão universal diluído (1:2 v/v) de diferentes valores de pH, tendo no final concentrações próximas a  $4 \times 10^{-5}$  M com absorvâncias entre 0,4 e 0,6.

Os espectros de absorção foram traçados logo após a mistura e as soluções armazenadas no escuro. Repetiu-se a obtenção de espectros 2 vezes por dia num intervalo máximo de 10 dias.

### **II.2.3. Dicroísmo circular**

Os espectros de dicroísmo circular foram registrados no UV/Vis entre 220 e 500 nm, com um Chirscan v.4.5.1752.0 Build : Dec 21 2015 10:33:43.

Manteve-se constante as concentrações de piridinochalcona ( $1,1 \times 10^{-4}$  M) e  $\beta$ -CD ( $10^{-2}$  M) em MeOH/H<sub>2</sub>O (0,05:0,95 v/v). foram utilizadas células de quartzo, com 1 cm de percurso ótico.

### **II.2.4. Cristalografia de raios-X**

Os dados foram coletados por APEX3 e SAINT (Bruker, 2015); Célula de refinamento SAINT (Bruker, 2015); Redução de dado: SAINT (Bruker, 2015); Programa utilizado para resolver as estruturas: SHELXS97 (Sheldrick, 2008); Programa utilizado para refinar as estruturas: SHELXL2014 (Sheldrick, 2008); Gráficos moleculares: ORTEP-3 for Windows (Farrugia, 2012) e PLATON (Spek, 2009); Software utilizado para preparar o material para a publicação: WinGX (Farrugia, 2012) e PLATON (Spek, 2009).

O método de obtenção de estruturas cristalinas por cristalografia de Raios-X consiste em fazer incidir um feixe monocromático de Raios-X na amostra (monocristal). O feixe incidente é difratado a vários ângulos pela nuvem electrónica gera um padrão de pontos característico da nuvem electrónica de cada átomo envolvido na amostra. A intensidade e posição dos feixes difratados, descreve o arranjo das células unitárias no espaço.<sup>[19]</sup>

### II.2.5. Ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectrômetros de RMN fazem parte da rede nacional de RMN, apoiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (RECI / BBB-BQB / 0230/2012). Os espectros de RMN foram obtidos a 298.0 K usando um Bruker AMX400 operando a 400 ( $^1\text{H}$ ) e 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ ).

As soluções foram preparadas em  $\text{CD}_3\text{OD}$  /  $\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) com concentrações entre  $10^{-3}$  e  $10^{-2}$  M. Os saltos de pD foram feitos com soluções de DCl e NaOD para pD ácidos e básicos, respectivamente.

### II.2.6. Análise elementar

Análise Elementar (determinação das percentagens de C, H, N e O) foi realizada usando equipamento Thermo Finnigan-CE Instrumentos Flash EA 1112 CHNS série.

### II.2.7. Espectrometria de massa de ionização por electrospray (ESI-MS)

Os espectros de massa foram obtidos num LTQ Orbitrap XLTM (ESI-MS) controlado por LTQ Tune Plus 2.5.5 e Xcalibur 2.1.0.

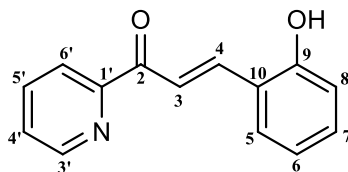
Esta técnica envolve a produção de iões (positivos ou negativos) a partir da solução (geralmente em água/solvente orgânico 1:1 v/v) do analito em um campo elétrico. O processo de ionização por electrospray ocorre quando uma nuvem de vapor é submetida a um forte campo elétrico que age na superfície das gotículas. Evapora-se o solvente sob vácuo até que sobre somente os iões livres.<sup>[20]</sup>

## II.3. Síntese

**Método geral para a preparação de piridinochalconas:** Num balão de fundo redondo equipado com agitador magnético dissolveu-se 1 equivalente de acetilpiridina e 1 equivalente salicilaldeído em etanol. A solução foi desarejada e mantida sob atmosfera de azoto enquanto foi adicionada gota a gota uma solução aquosa de KOH 19,4 M. Manteve-se a agitação à temperatura ambiente durante a noite. A formação do produto foi comprovada por TLC, utilizando uma mistura de diclorometano/acetato de etilo (80:20, v/v) como eluente. O produto foi neutralizado com HCl e concentrado no rotavapor. O sólido resultante foi filtrado e purificados por coluna cromatográfica sobre gel de sílica de

30 – 400 mesh utilizando uma mistura de diclorometano/acetato de etilo (80:20, v/v) como eluente.<sup>[21]</sup>

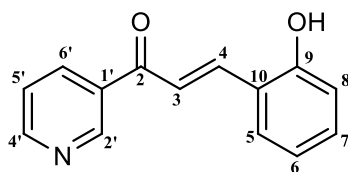
### II.3.1. Síntese de (*E*)-3-(2-hidroxifenil)-1-(piridin-2-il)prop-2-en-1-ona (Py2, 2-piridinochalcona)



Preparado de acordo com o método geral mas, mudou-se o método de purificação.

Dissolveu-se 1,1 mL de 2-acetilpiridina (10 mmol) e 1mL de salicilaldeído (10 mmol) em 15 mL de etanol, adicionou-se gota a gota 0,9 mL de KOH 19,4 M. O isolamento do produto foi feito por duas extrações com diclorometano, as fases orgânicas combinadas foram secas sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrou-se e a solução obtida foi concentrada num evaporador rotativo e seca a vácuo, formando um pó verde (0,79g, 35%). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.76 (dd, *J* = 4.8, 1.3 Hz, 1H, H3'), 8.34 – 8.24 (t, *J* = 16Hz - *J* = 16Hz, 2H, H4+H3), 8.16 (dd, *J* = 7.8, 1.1 Hz, 1H, H6'), 8.01 (td, *J* = 7.7, 1.8 Hz, 1H, H4'), 7.72 (d, 1H, H5), 7.62 (ddd, *J* = 7.6, 4.8, 1.3 Hz, 1H, H5'), 7.28, (td, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H7), 6.91 (dd, *J* = 8.1, 6.7 Hz, 2H, H6+H8). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ =190.06(C2), 157.60(C9), 154.32(C1'), 148.67(C6'), 140.84(C4), 137.32(C4'), 131.84(C7), 128.55(C5), 126.98(C5'), 122.52(C3'), 121.94(C10), 119.90(C3), 119.45(C6), 115.73(C8). AE calculado para C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>: %C 74,65; %H 4,92; %N 6,22; Obtido: %C 74,46, %H 5,09, %N 6,19.

### II.3.2. Síntese de (*E*)-3-(2-hidroxifenil)-1-(piridin-3-il)prop-2-en-1-ona (Py3, 3-piridinachalcona)

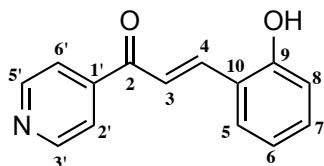


Preparado de acordo com o método geral.

Em 7,5 mL de etanol dissolveu-se 0,5 mL de 3-acetilpiridina (4,5 mmol) e 0,45 mL de salicilaldeído (0,45 mmol) e adicionou-se gota a gota 0,5 mL de KOH 19,4 M. A solução obtida da cromatografia foi concentrada no evaporador rotativo e seca sob vácuo

obtendo-se um pó amarelo (0,4783g, 46,86%). **<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD/D<sub>2</sub>O 1:1, pD=6,95) δ 9.19 (s, *J* = 2.3 Hz, 1H, H2'), 8.77 (dd, *J* = 4.9, 1.7 Hz, 1H, H6'), 8.46 (dt, *J* = 8.0, 2.0 Hz, 1H, H4'), 8.18 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H, H4), 7.81 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H, H3), 7.72 (dd, *J* = 8.0, 1.7 Hz, 1H, H5), 7.63 (dd, *J* = 8.0, 4.9 Hz, 1H, H5'), 7.28 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H7), 6.92 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H8+H6). **<sup>13</sup>C NMR** (101 MHz, MeOD:D<sub>2</sub>O 1:1, pD 6,95) δ=189.80 (C2), 157.72 (C9), 152.03 (C6'), 148.80 (C2'), 142.23 (C4), 136.42 (C4'), 134.16 (C1'), 132.08 (C7), 129.26 (C5), 124.00 (C5'), 121.45 (C10), 120.66 (C3), 119.51 (C6), 115.75 (C8). **MS** (ESI-MS): *m/z*: 226.1 calculado para [C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. **AE** calculado para C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>: %C 74,6; %H 4,6; %N 6,2; Obtido: %C 74,75, %H 5,4, %N 6,21.

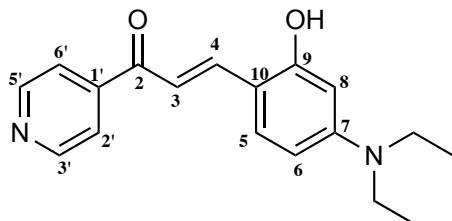
### II.2.3. Síntese de (*E*)-3-(2-hidroxifenil)-1-(piridin-4-il)prop-2-en-1-ona (Py4, 4-piridinochalcona)



Preparado com base no método geral.

Em 15 mL de etanol foram dissolvidos 1,1 mL de 4-acetilpiridina (10 mmol) e 1,04 mL de salicilaldeído (10 mmol) e adicionou-se gota a gota 0,9 mL de KOH 19,4 M. A solução purificada por cromatografia em gel de sílica foi concentrada no evaporador rotativo e seca sob vácuo, obtendo-se um pó amarelo (0,34g, 15%). **<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD/D<sub>2</sub>O 1:1, pD 6) δ 8.85 – 8.74 (m, 2H, H3'+H5'), 8.17 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H, H4), 8.01 – 7.90 (m, 2H, H6'+H2'), 7.76 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H, H3), 7.71 (dd, *J* = 8.1, 1.7 Hz, 1H, H5), 7.30 (td, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 1H, H7), 6.92 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H6+H8). Os dados de <sup>1</sup>H RMN estão de acordo com os publicados na literatura.<sup>[21]</sup>

### II.2.4. Síntese de (*E*)-3-(4-(*N,N*-dietilamino)-2-hidroxifenil)-1-(piridin-4-il)prop-2-en-1-ona (7NPy4, 7-dietilamino-4-piridinochalcona)



Preparado de acordo com o método geral.

Em 15 mL de etanol foram dissolvidos 1,1 ml de 4-acetilpiridina (10 mmol) e 1,967g de 4-dietilaminosalicilaldeído (10,18 mmol) e adicionou-se gota a gota 0,9 mL de KOH 19,4 M. A solução purificada por cromatografia em gel de sílica foi concentrada no evaporador rotativo e seca sob vácuo, obtendo-se um pó castanho-arroxado ( 0,1g, 7%).  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Acetona- $d_6$ )  $\delta$  9.02 (s, 1H,OH), 8.80 (d, 2H,H3'+H5'), 8.18 (d,  $J$  = 16 Hz, 1H,H4), 7.86 (d, 2H,H2'+H6'), 7.64 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 1H,H5), 7.53 (d,  $J$  = 16 Hz, 1H,H3), 6.37 (dd,  $J$  = 8.9, 2.5 Hz, 1H,H6), 6.29 (s, 1H,H8), 3.44 (q,  $J$  = 7.1 Hz, 4H,2CH<sub>2</sub>), 1.19 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 6H,2CH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  188.34 (C2), 157.60 (C10), 151.73 (C9), 150.53 (C3'+C5'), 145.69 (C1'), 142.56 (C4), 131.09 (C5), 121.28 (C2'+C6'), 114.37 (C3), 110.02 (C7), 104.82 (C6), 97.47 (C8), 44.22 (2CH<sub>2</sub>), 12.05 (2CH<sub>3</sub>). **MS** (ESI-MS):  $m/z$ : 297.16 calculado para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2]^+$ . **AE** calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_2$ : %C 72,95; %H 6,80; %N 9,52; Obtido: %C 72,97, %H 6,49, %N 9,45.

#### II.4. Métodos de recristalização

Recorreu-se a recristalização como método de purificação e com os cristais obtidos foram feitos estudos de elucidação estrutural por cristalografia de raios-X.

**Py2, 2-piridinochalcona:** A recristalização foi feita em solução saturada de metanol quente que foi arrefecendo no escuro lentamente. Em 24 horas observou-se a formação de cristais revestido por pó na superfície. Foi preciso uma segunda recristalização para obter-se espetaculares cristais verde-escuros.

**Py3, 3-piridinochalcona:** Recristalizou-se em solução saturada de metanol/éter (2:1 v/v) quente, posto a arrefecer e a evaporar lentamente no escuro a temperatura ambiente. Os cristais formaram-se na parede do balão, onde foram recolhidos diretamente com ajuda de uma espátula. O processo foi repetido varias vezes em intervalos de 72 horas.

**Py4, 4-piridinochalcona:** A recristalização foi feita em solução saturada de metanol quente que foi arrefecendo lentamente em um balão de fundo redondo no escuro. Após 24 horas formou-se lindos e enormes cristais amarelos.

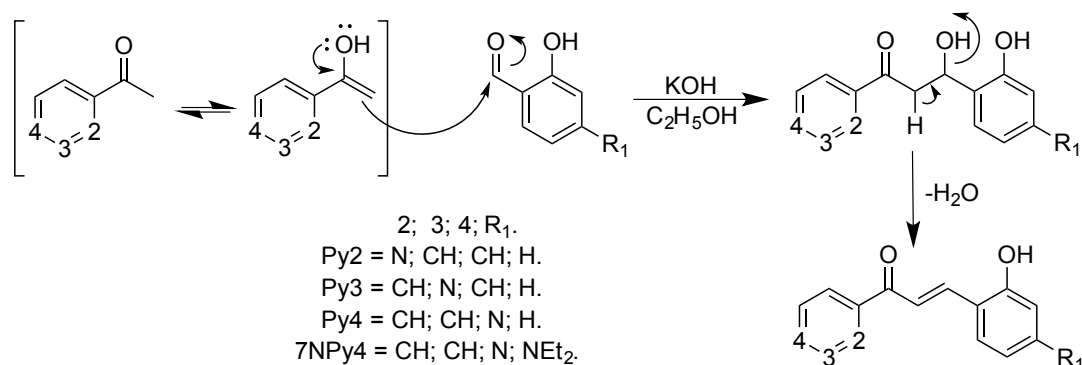
**7NPy4, 7-dietilamino-4-piridinochalcona:** Foi recristalizado numa solução saturada de metanol/éter (2:1 v/v) quente. Passadas 72 horas a arrefecer lentamente à temperatura ambiente, observou-se a formação de elegantes e exuberantes cristais roxos.

### III. Resultados e discussão

O trabalho experimental envolveu quatro componentes distintas: síntese e elucidação estrutural dos compostos obtido, caracterização termodinâmica e cinética, estudos de complexação com a  $\beta$ -CD e para finalizar fotoindução quiral. Os resultados são apresentados e discutidos em subcapítulos diferentes.

#### III.1. Síntese

A síntese das piridinochalconas descrita na literatura a partir da condensação de 2-hidroxibenzaldeídos (salicilaldeídos) com acetopiridinas em meio básico.<sup>[21]</sup> Na figura III.1. está representado o mecanismo proposto para a reação de formação da piridinochalcona a partir de acetopiridina e salicilaldeído. A condensação das duas moléculas inicia-se pelo ataque nucleófilo do enol (em equilíbrio com a acetopiridina) ao salicilaldeído, recuperando o grupo carbonilo. A perda de uma molécula de água resulta na extensão da conjugação  $\pi$  e formação da piridinochalcona.



**Figura III. 1:** Mecanismo geral de síntese de piridinochalconas por condensação de salicilaldeído com acetopiridina em meio básico.

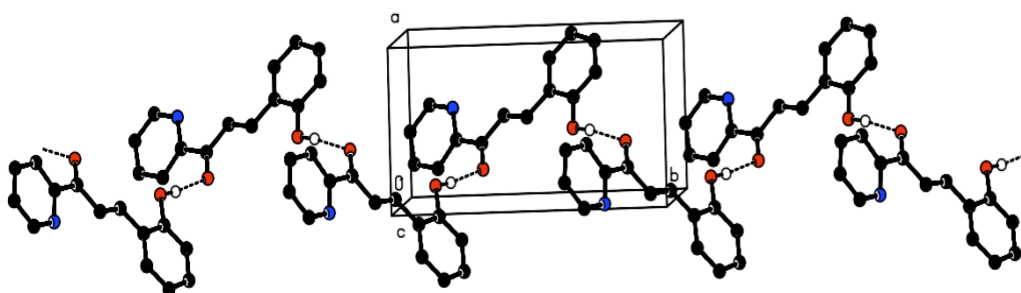
Os produtos foram identificados por TLC e confirmados por <sup>1</sup>H RMN, AE e ESI-MS. Por <sup>1</sup>H RMN, os prótons  $\alpha$  e  $\beta$  ao carbonilo e são facilmente identificados pela integração e à constante de acoplamento de 15-16 Hz, característica de prótons *trans*.

Os rendimentos da síntese comparando com os do composto Py4 23%, relatado na literatura<sup>[21]</sup>, são relativamente bons exceto para o 7NPy4: 35% para Py2, 46,9% para Py3 e 7% para 7NPy4. O rendimento de 7NPy4 foi baixo devido às perdas durante a purificação. Pode concluir-se que é um bom método de síntese de piridinochalconas.

### III.2. Cristalografia de raios-X

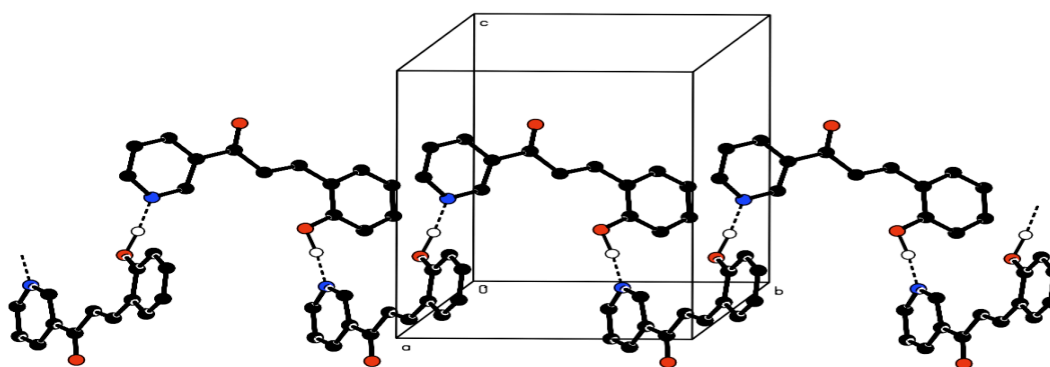
A cristalografia de raios-X permite determinar com precisão as distâncias e os ângulos estabelecidos entre os átomos na estrutura da molécula bem como as interações intermoleculares na rede cristalina.<sup>[19]</sup>

A figura III.2. apresenta-se a rede cristalina do composto Py2. Foi observado que o Py2 é planar com a ponte de hidrogénio entre o carbonilo e o fenol.



**Figura III. 2:** Rede cristalina de Py2.

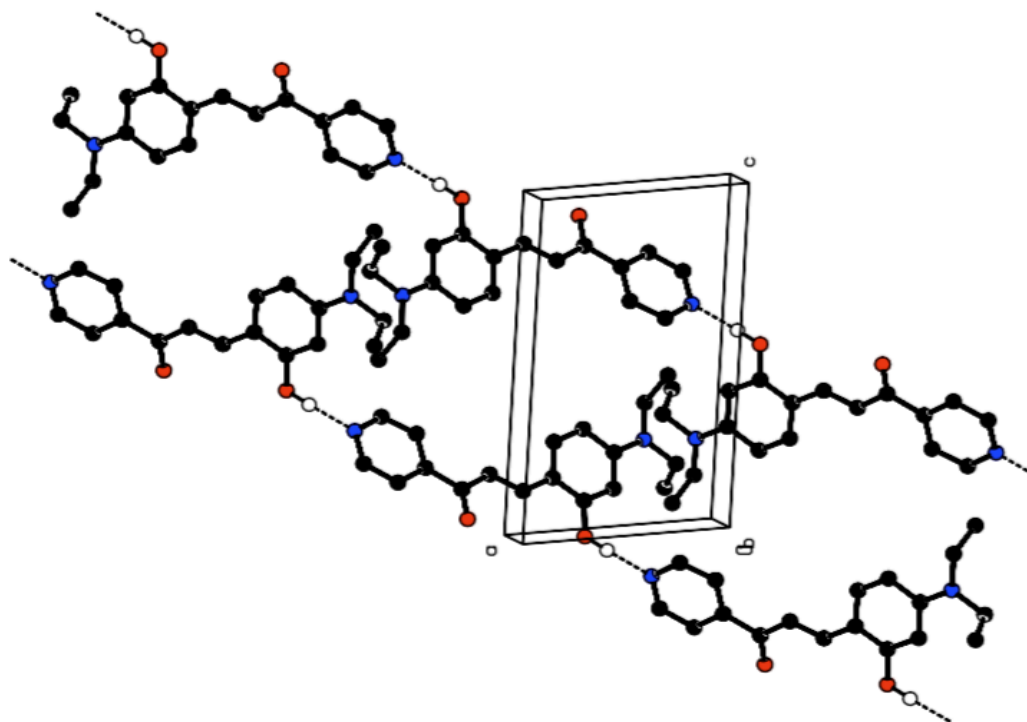
O composto Py3 é planar com ligação de hidrogénio formada entre o azoto e o oxigénio do fenol, figura III.3. Esta ligação de hidrogénio não envolve o carbonilo, contrariamente ao observado com o Py2. O mesmo acontece com o composto Py4 (Anexo A).



**Figura III. 3:** Rede cristalina de Py3.

O composto 7NPy4 é planar com os metilos fora do plano em lados opostos apresenta a ligação de hidrogénio formada entre o azoto da piridina e o oxigénio do fenol, cf. Figura III.4, reforçando a ideia que o azoto da piridina é mais facilmente protonável que o azoto da dietilamina.





**Figura III. 4:** Rede cristalina de 7NPy4.

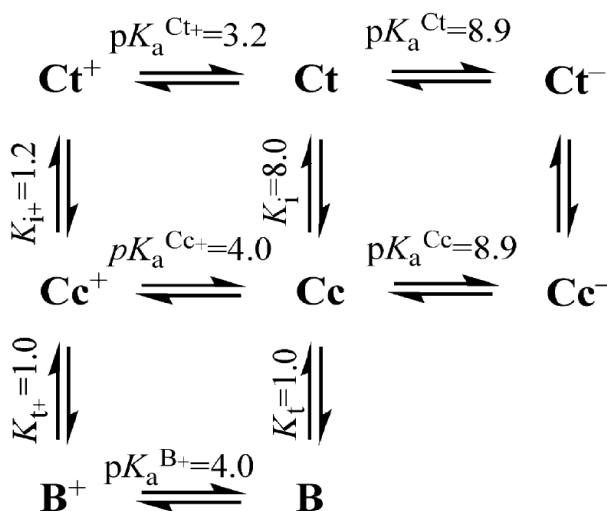
Os resultados de cristalografia de raios-X revelaram pormenores das estruturas dos compostos como planaridade, interações intermoleculares, ângulos e comprimentos de ligação. A tabela III.1. descreve o arranjo das células unitárias.

**Tabela III 1:** Dados cristalográficos para os compostos estudados.

	<b>Py2</b>	<b>Py3</b>	<b>Py4</b>	<b>7NPy4</b>
<b>Fórmula</b>	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
<b>M (g.mol<sup>-1</sup>)</b>	225,24	225,24	225	296,36
<b>Densidade</b>	1,342 mg.m <sup>-3</sup>	1,366 mg.m <sup>-3</sup>		1,24 mg.m <sup>-3</sup>
<b>Volume</b>	1114,84(10)Å <sup>3</sup>	1095,60(8)Å <sup>3</sup>	1122,99 Å <sup>3</sup>	1583.9(3) Å <sup>3</sup>
<b>Sistema cristalino</b>	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico
<b>Grupo espacial</b>	P2 <sub>1</sub> /n	P2 <sub>1</sub> /c	P2 <sub>1</sub> /n	P2 <sub>1</sub> /n
<b>A</b>	6,3311(3) Å	10,3400(5) Å	6,4171(3) Å	7,0094(8) Å
<b>B</b>	12,5639(6) Å	9,0867(4) Å	14,510 (6) Å	18,254(2) Å
<b>C</b>	14,0188(8) Å	11,9877(5) Å	12,0942 (5) Å	12,4990(13) Å
<b><math>\alpha</math></b>	90°	90°	90°	90°
<b><math>\beta</math></b>	91,260(2)°	103,412(3)°	94,308(2)°	97,944°
<b><math>\gamma</math></b>	90°	90°	90°	90°

### III.3. Estudos em solução aquosa

O conjunto de reações químicas do composto 4-piridiniochalcona foi estudada com detalhes por Leydet et al.<sup>[21]</sup> Através de saltos de pH foi observada a existência de três espécies ( $Ct^+$ ,  $Ct$  e  $Ct^-$ ). A pH neutro e ácido, com o tempo ou por ação da luz, observa-se reatividade da  $Ct$ , Figura III.5, sendo  $B^+$  a espécie termodinamicamente mais estável a pH suficientemente ácido.



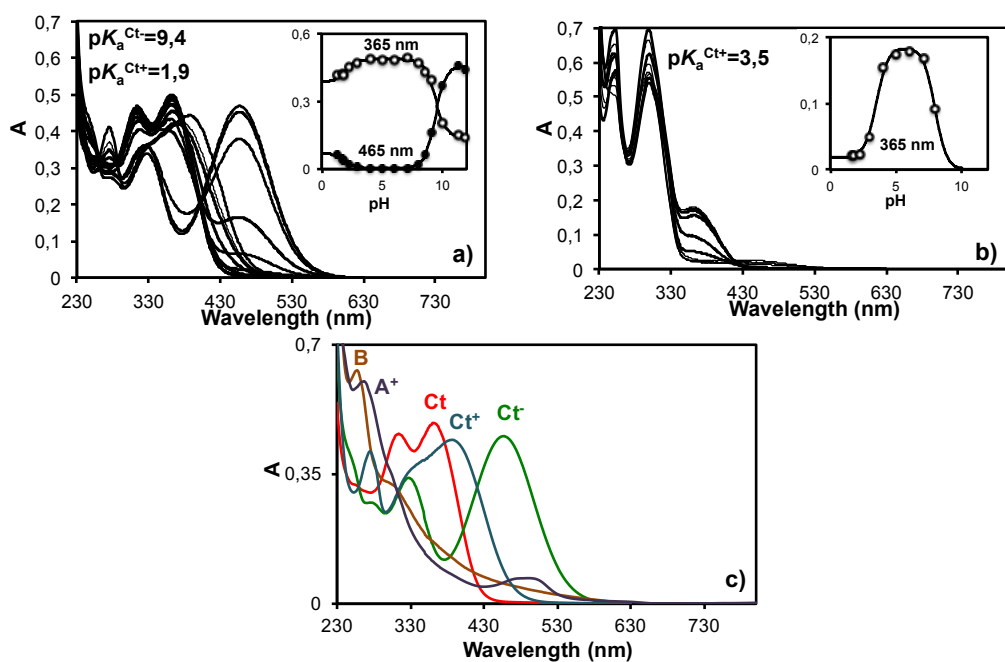
**Figura III. 5:** Equilíbrios termodinâmicos em soluções MeOH/H<sub>2</sub>O (1: 1 v/v) do composto 4-piridiniochalcona.<sup>[21]</sup>

Estudos análogos foram feitos com os compostos 2-piridiniochalcona (Py2), 3-piridiniochalcona (Py3) e 7-dietilamino-4-piridiniochalcona (7NPy4), que serão discutidos ao longo deste subcapítulo.

#### III.3.1. Equilíbrio ácido-base

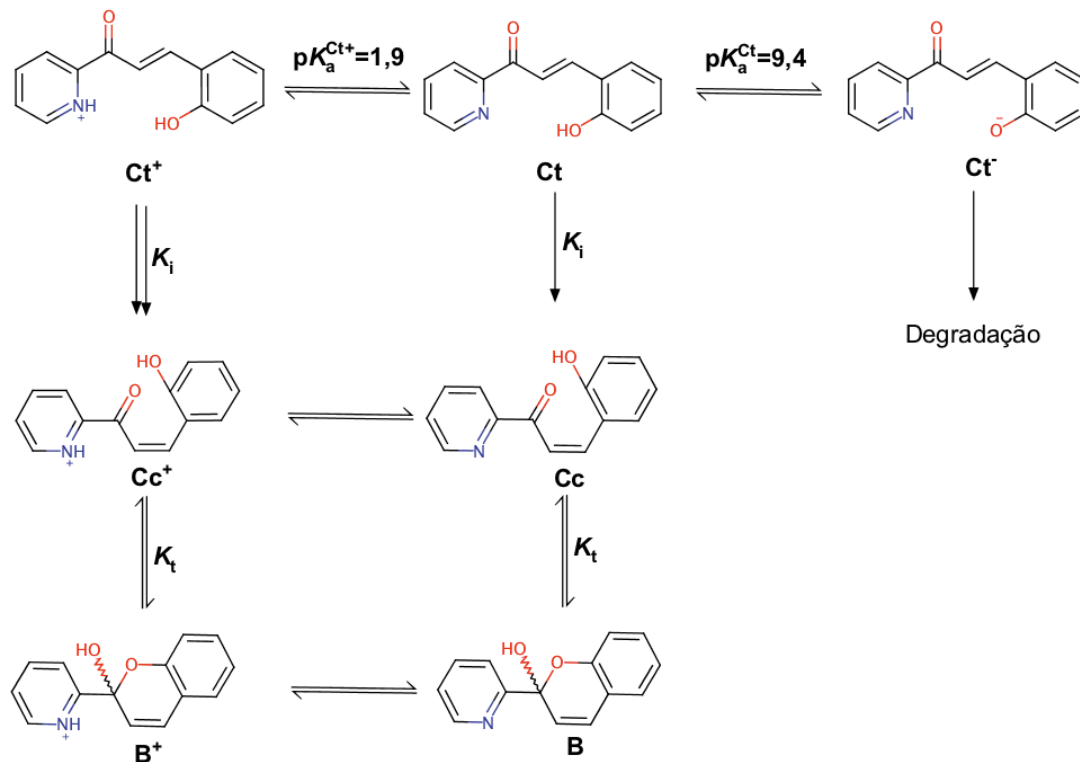
Os compostos Py2, Py3, Py4 e 7NPy4 foram estudados através de saltos de pH da zona neutra para pH's ácidos ou básicos, seguidos por espectroscopia de UV/Vis e, nalguns casos, por <sup>1</sup>H RMN.

A figura III.6 apresenta os espectros iniciais e equilibrados do composto Py2 em CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (1:1 v/v). Os saltos para pH's ácidos levam à formação de  $Ct^+$  por protonação da piridina (com  $pK_a^{Ct^+}=1,9$ ) enquanto que os saltos para pH's básicos levam à formação de  $Ct^-$  por desprotonação do fenol, com  $pK_a^{Ct^-}=9,4$  Fig. III.6.a. A pH's neutro e ácido, o composto evolui termodinamicamente para um sistema de equilíbrio em que as espécies maioritárias são  $B + Cc$  e  $B^+ + Cc^+$ , respectivamente. Em solução básica, a espécie  $Ct^-$  vai-se degradando, perdendo as suas características espectrais em menos de 24 horas, cf. Figura III.7. A degradação é confirmada pelo facto de não se recuperar a espécie  $Ct$  ao neutralizar a solução.



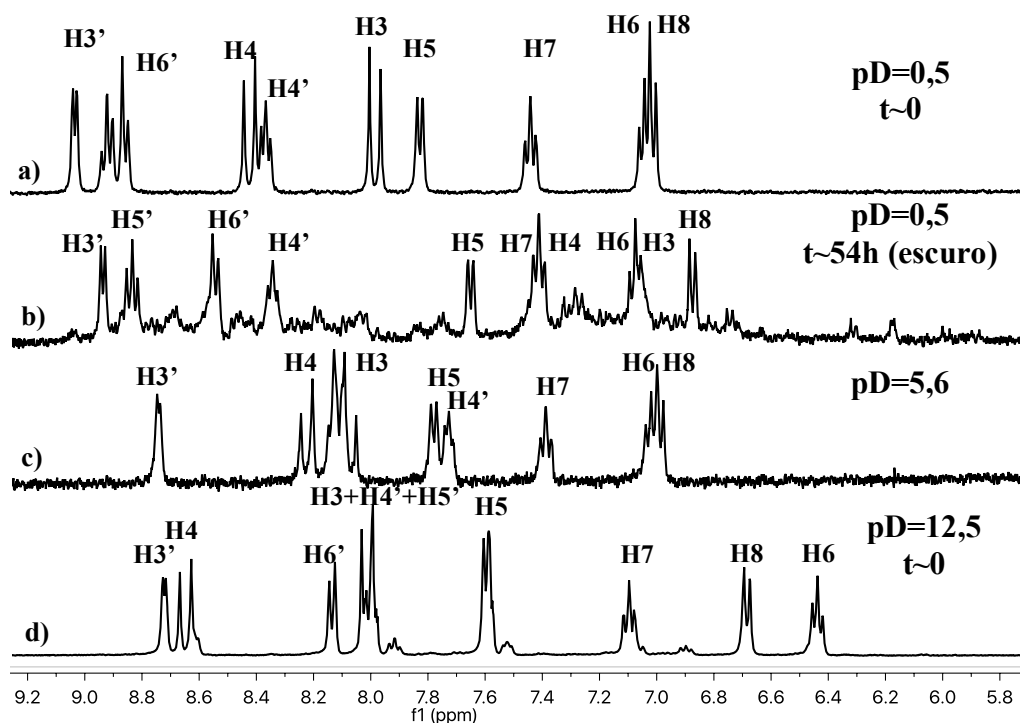
**Figura III. 6:** Espectros de absorção do composto Py2 ( $3,8 \cdot 10^{-5} \text{M}$  em  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v): **a)** Espectros imediatos após o salto de pH na gama de 1,38 – 11,96; **b)** Espectros equilibrados no escuro na faixa de pH de 1,38 – 7,98 (10 dias,  $294 \pm 2 \text{ K}$ ); **c)** Espectros das espécies individuais.

A figura III.7 apresenta o processo de evolução e degradação do composto Py2 em  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) seguido por absorção UV/Vis na gama de pH de 1,38 – 12.



**Figura III. 7:** Conjunto de reações químicas do composto Py2 em  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v).

Para caracterizar melhor foram feitos estudos  $^1\text{H}$  NMR: as soluções foram preparadas em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) em pD previamente estabelecidos pelos estudos feitos em espectroscopia UV/Vis. A figura III.8 apresenta os espectros de  $^1\text{H}$  RMN a diferentes valores de pD. A atribuição dos desvios químicos na íntegra para as espécies Ct,  $\text{Ct}^+$ , B e  $\text{A}^+$  encontram-se nos anexos B, tabela B1.



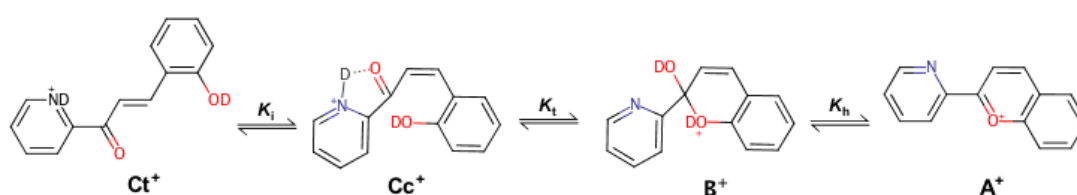
**Figura III. 8:** Espectros  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 300K,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  1:1) do composto Py2: **a)** Logo após o salto de pD=5,6 a pD=0,5 observa-se 100% de  $\text{Ct}^+$ ; **b)** Mesma solução equilibrada no escuro em 54 horas observa-se maioritariamente  $\text{A}^+$ ; **c)** Solução a pD= 5,6 mantida no escuro por 2 dias apresenta quantidade superior de 95% de Ct; **d)** 5 minutos após o salto de pD=5,6 a pD=12,5 é observado  $\text{Ct}^-$  maioritariamente.

Os espectros  $^1\text{H}$  RMN a) e d) (figura III.8) confirmam a formação das espécies  $\text{Ct}^+$  e  $\text{Ct}^-$ , respectivamente, como demonstrado pelas constantes de acoplamento de ca. 16 Hz característicos de prótons em isômeros *trans*.

Foi observado um efeito isotópico nas soluções de Py2, pois os resultados observados por  $^1\text{H}$  RMN a pD ácido (figura III.8.a e b), o sistema evolui de maneira ligeiramente diferente do observado nas soluções diluídas em solventes não deuterados usados em UV/Vis (Figura III.6.a e b). A pD=0,5 a solução evolui para um sistema de equilíbrio que apresenta o catião flavílio ( $\text{A}^+$ ) como espécie maioritária (Figura III.8.b), o que foi comprovado pelo aparecimento de cor vermelha arroxeada e por RMN, onde se observa que não há presença de ligação *trans* e os desvios químicos dos prótons  $\text{H3}'$  e  $\text{H6}'$  para campo alto que confirmam a desprotonação da piridina na espécie  $\text{A}^+$  (cf. Anexo B, tabela B.1). O espectro de absorção UV/Vis da espécie  $\text{A}^+$  apresentado na Figura III.6.c. foi

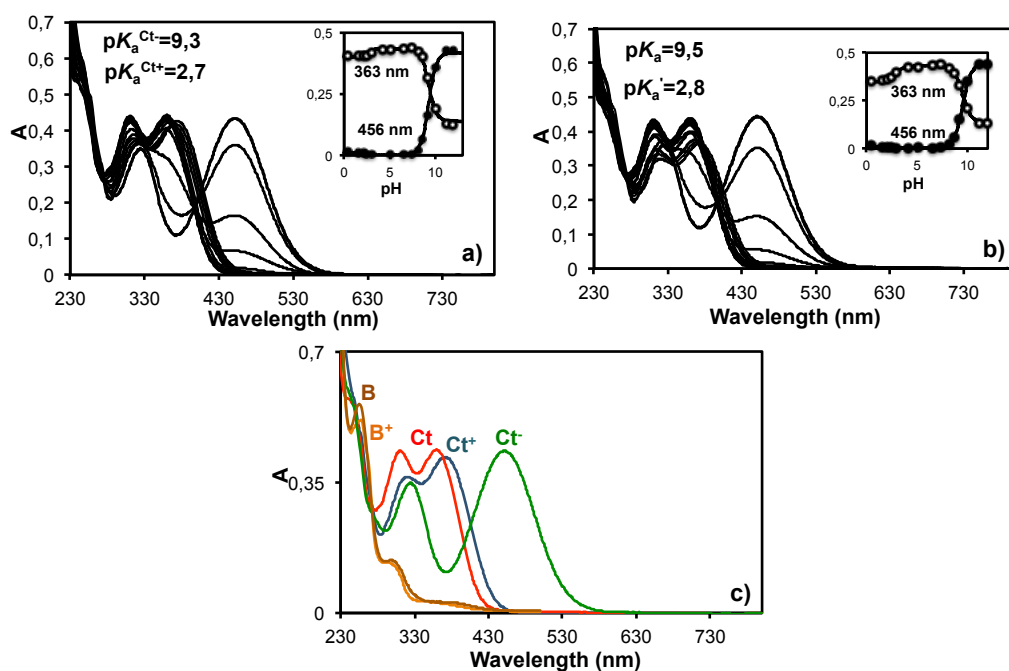
obtido por diluição de 50  $\mu\text{L}$  da solução no tubo de RMN em 3 mL de  $\text{MeOH:H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) pH 2,3.

Estes resultados foram muito surpreendentes. O hidrogénio e deutério têm características químicas idênticas mas a diferença de massa atômica influenciou o equilíbrio ácido-base. A evolução do sistema para flavílio a pD ácido (contrariamente ao observado em Py3 e Py4) pode ser explicado pela proximidade do azoto protonado e do carbonilo que permite a transferência de deutério, favorecendo a desidratação do hemiacetal para formar o catião flavílio. Este esquema encontra-se ilustrado na Figura III.9.



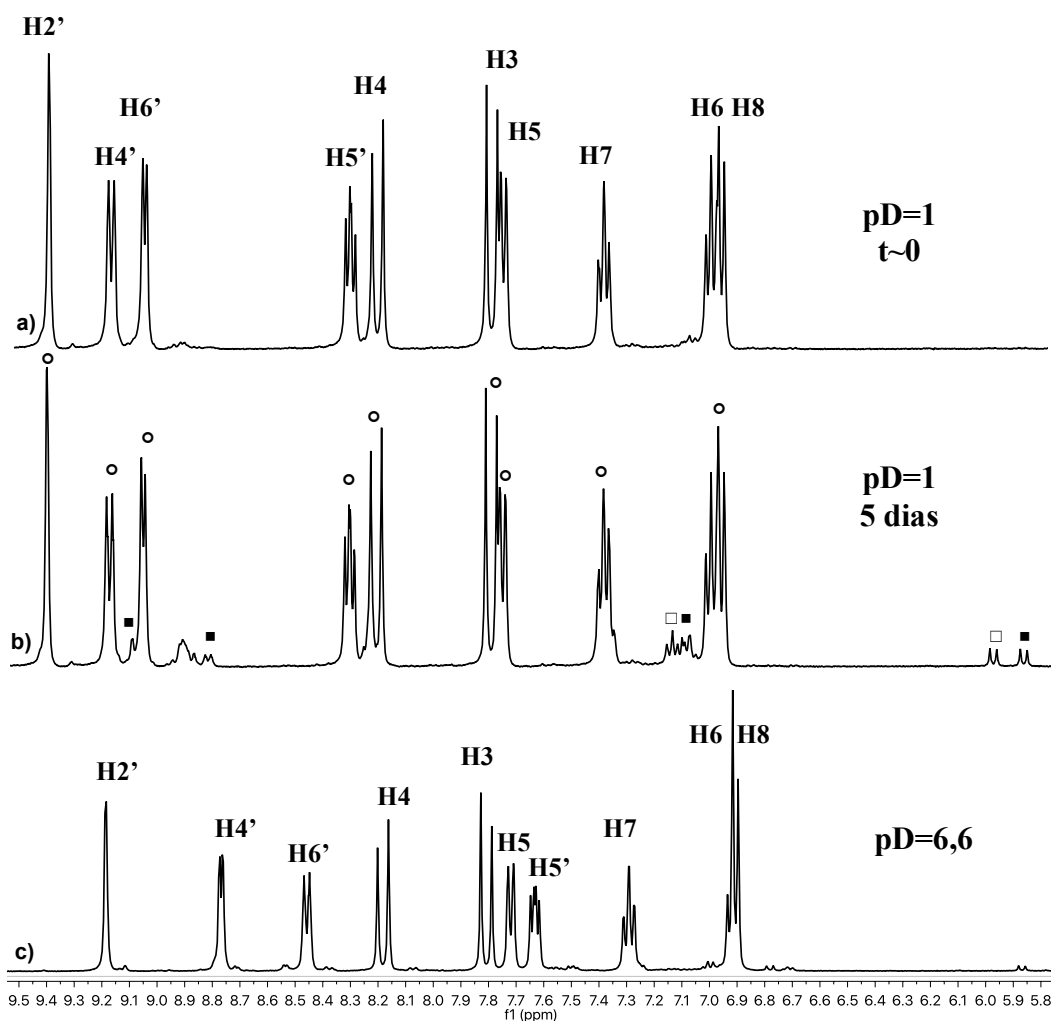
**Figura III. 9:** Equilíbrios termodinâmicos de 8,9 mM de Py2 em  $\text{CD}_3\text{OD:D}_2\text{O}$  (1: 1 v/v) pD = 0,5.

Os espectros resultantes dos saltos de pH's no composto Py3 estão apresentados na Figura III.10. O composto Py3 em solução estabiliza as espécies  $\text{Ct}^+$ , Ct e  $\text{Ct}^-$  a pH ácidos, neutros e básicos, respectivamente. Estas espécies são inertes no escuro à temperatura ambiente durante 30h, como demonstrado nas figuras III.10 a) e b). A ausência de catião flavílio nos compostos Py3 e Py4 é explicada pela repulsão eletrostática das cargas positivas, visto que a protonação da piridina é feita a pH's em que se formaria o catião flavílio.<sup>[21]</sup> Por outro lado, e contrariamente ao sugerido para Py2, não existe a facilidade do ataque ao carbonilo pois não há possibilidade de formação de ligações de hidrogénio na Cc entre o azoto protonado da piridina e o carbonilo.



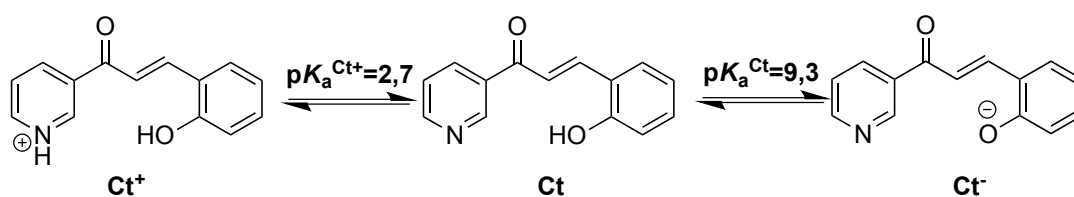
**Figura III.10:** Espectros de absorção do composto Py3 ( $3,8 \cdot 10^{-5} M$  em  $CH_3OH/H_2O$  (1:1 v/v)): **a)** Espectros imediatos após o salto de pH na gama de 0,4 – 11,96; **b)** Mesmos espectros equilibrados no escuro (30h,  $294 \pm 2$  K); **c)** Espectros das espécies individuais.

Os espectros de  $^1H$  RMN na Figura III.11 demonstram a formação muito lenta de pequenas quantidades de  $Cc^+$  e  $B^+$  do composto Py3 a  $pD=1$  (ao fim de 5 dias). A atribuição dos desvios químicos na integra para as espécies Ct e B encontram-se nos anexos B, tabela B.2.



**Figura III. 11:** Espectros  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 300K,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  1:1) do composto Py3: **a)** Logo após o salto de  $\text{pD}=6,6$  a  $\text{pD}=1$ , observa-se 100% de  $\text{Ct}^+$ ; **b)** Mesma solução equilibrada no escuro em 5 dias apresenta 14,5%  $\text{Cc}^+$  ( $\square$ ); 14,5%  $\text{B}^+$  ( $\blacksquare$ ); 71%  $\text{Ct}^+$  ( $\circ$ ); **c)** Solução a  $\text{pD}=6,6$  mantida no escuro por 5 dias apresenta quantidade superior de 95% de  $\text{Ct}$ .

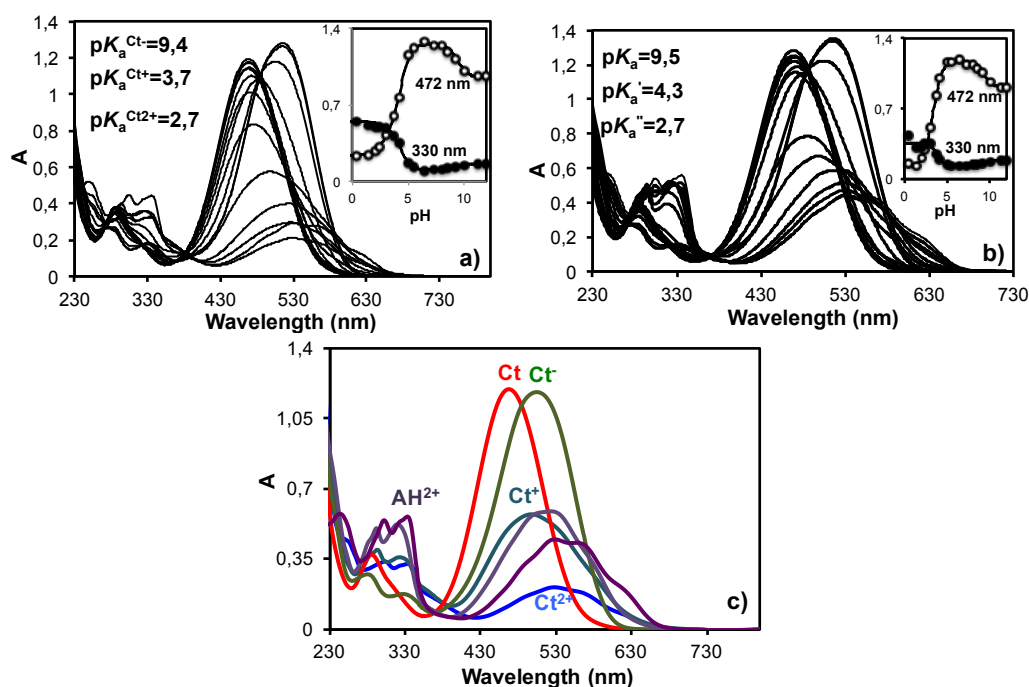
A figura III.12. Apresenta o esquema geral do composto Py3 em solução. No equilíbrio termodinâmico é constituído maioritariamente pelas espécies  $\text{Ct}^+$ ,  $\text{Ct}$  e  $\text{Ct}^-$ .



**Figura III. 12:** Equilíbrios termodinâmicos em soluções metanol/água (1:1 v/v) do composto Py3.

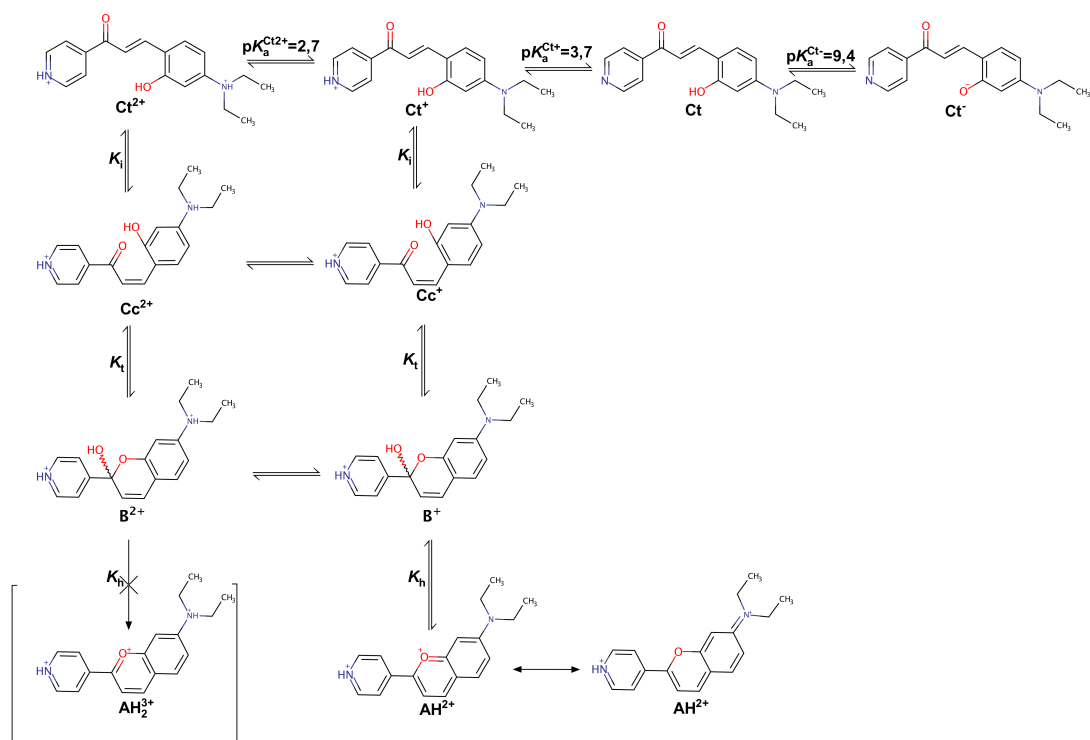


A figura III.13 apresenta os espectros iniciais e equilibrados do composto 7NPy4 em CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (1:1 v/v). Os saltos para pH's ácidos levam à formação de duas espécies uma monoprotonada Ct<sup>+</sup> (por protonação da piridina) e outra biprotonada Ct<sup>2+</sup> (Protonação da piridina e da dietilamina) enquanto que os saltos para pH's básicos levam à formação de Ct<sup>-</sup> por desprotonação do fenol, com  $pK_a^{Ct} = 9,4$  Fig.3.9.a. A pH ácido o composto evolui termicamente para um sistema de equilíbrio em que a espécie maioritária é AH<sup>2+</sup>. Em solução neutra e básica, as espécies Ct e Ct<sup>-</sup>, respectivamente, mantêm-se estáveis cf. Figura III.14.



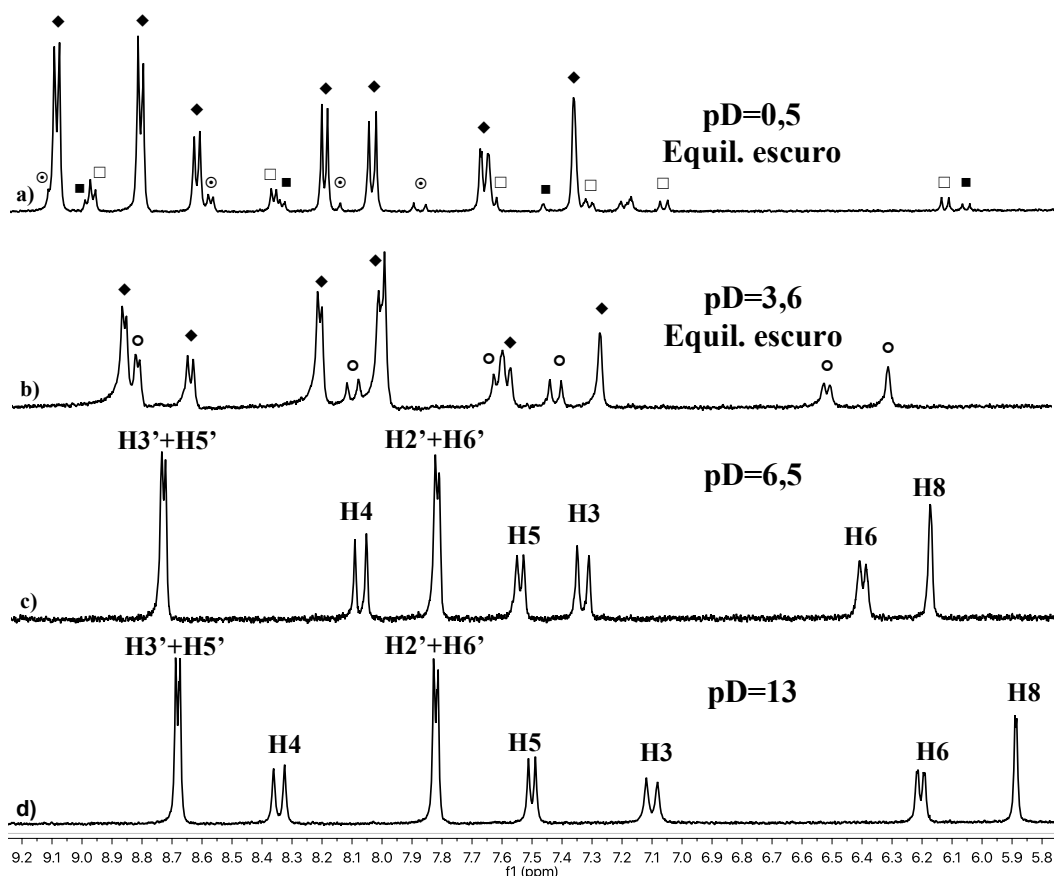
**Figura III. 13:** Espectros de absorção do composto 7NPy4 ( $3,8 \cdot 10^{-5} M$  em CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (1:1 v/v): **a)** Espectros imediatos após o salto de pH na gama de 0,4 – 11,96; **b)** Mesmos espectros equilibrados no escuro (30h, 294±2 K); **c)** Espectros das espécies individuais.

A figura III.14. Apresenta o esquema reacional dos processos de evolução do composto 7NPy4 em CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) seguido por absorção UV/Vis e RMN na gama de pH de 0,4 – 11,96.



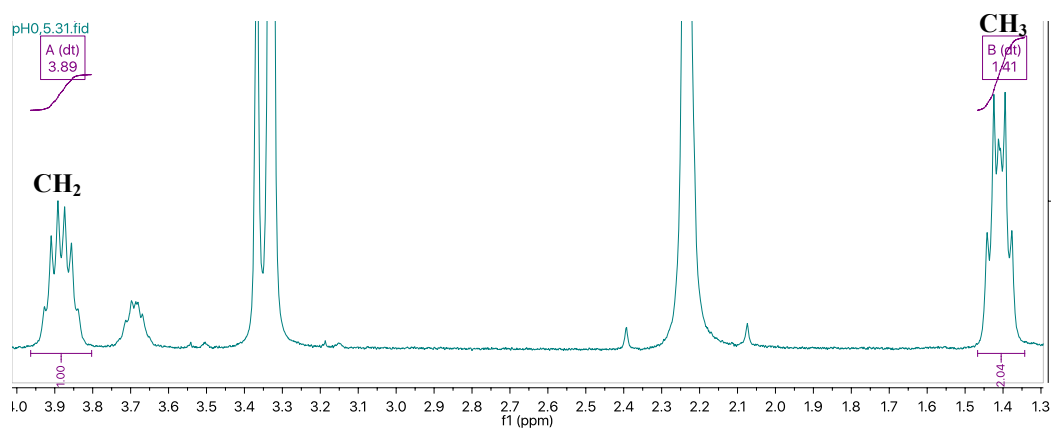
**Figura III. 14:** Equilíbrios termodinâmicos em soluções  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) do composto 7Npy4.

A Fig. III.15. apresenta os espectros de  $^1\text{H}$  RMN relativos ao composto 7Npy4. O espectro a) mostra que a composição do equilíbrio a  $\text{pD}=0.5$  é 27%  $\text{B}^{2+}+\text{Cc}^{2+}$ , 10%  $\text{Ct}^{2+}$  e 63% de  $\text{AH}^{2+}$ . Esta composição praticamente não evolui após o salto de pH o que significa que o estabelecimento do equilíbrio é muito rápido a estes valores de pD. Por essa razão, não foi possível observar nos espectros de  $^1\text{H}$  NMR as espécies  $\text{Ct}^{2+}$  e  $\text{Ct}^+$  como espécies maioritárias após os saltos de pH's para as zonas mais ácidas. A atribuição dos desvios químicos na integra para as espécies Ct, B e  $\text{AH}^{2+}$  encontram-se em Anexos B, tabela B.4.



**Figura III. 15:** Espectros  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, 300k,  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  1:1),  $1,7 \times 10^{-3}\text{M}$  do composto 7NPy4: a) Solução a  $\text{pD} = 0,5$  equilibrada no escuro (70 mim,  $292 \pm 2^\circ\text{K}$ ) está constituída por 27%  $\text{B}^{2+}$  (■),  $\text{Cc}^{2+}$  (□), 10%  $\text{Ct}^{2+}$  (○) e 63% de  $\text{AH}^{2+}$  (◆); b) Solução a  $\text{pD} = 3,6$  equilibrada no escuro (70 mim,  $292 \pm 2^\circ\text{K}$ ) observa-se 44%  $\text{Ct}^{2+}$  (○) e 56%  $\text{AH}^{2+}$  (◆); c) A solução a  $\text{pD} = 6,5$  não evolui para outras espécies, apresenta 100% de  $\text{Ct}^{2+}$ ; d) Solução a  $\text{pD} = 13$  com 100% de  $\text{Ct}^{2+}$  degradada ao fim de 7 dias.

No composto 7NPy4 foi possível identificar a espécie  $\text{AH}^{2+}$ . O híbrido de ressonância que melhor descreve a distribuição de carga no composto  $\text{AH}^{2+}$  é o que tem a carga positiva localizada no azoto da dietilamina, cf. Figura III.14. De facto, os protões  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  da dietilamina não se apresentam como os habituais quarteto e triplete, respectivamente, mas como multipletos. Estes são aparentemente um sexteto e um quintupeto, mas que resultam da sobreposição de dois tripletos e dois quartetos, respectivamente, pois os etilos são quimicamente equivalentes mas magneticamente não equivalentes devido à rigidificação introduzida pela ligação dupla  $\text{C}=\text{N}^+$ , como observado na figura III.16.



**Figura III. 16:** Multiplicidade dos sinais dos metis e metilenos no  $\text{AH}^{2+}$  do composto 7NPy4.

Para todos os compostos as várias espécies de Ct (protonadas e desprotonadas) foram inequivocamente identificadas pela constante de acoplamento entre os prótons H3 e H4 ( $^3J$  15-16 Hz). As atribuições dos desvios químicos na integra encontram-se nos anexos B. O hemicetal foi identificado por  $^{13}\text{C}$  NMR, sendo que o carbono ligado aos dois oxigénios apresenta desvios químico próximo de 99,5 ppm.

As figuras III.6; III.10 e III.13 mostram que os espectros das espécies  $\text{Ct}^-$  e  $\text{Ct}^+$  dos compostos Py2, Py3 e 7NPy4 estão deslocados para o vermelho relativamente ao espectro da espécie Ct. O deslocamento da banda de  $\text{Ct}^-$  é provocado por uma deslocalização mais extensa de carga devido à desprotonação do fenol. Por outro lado, o desvio para o vermelho da  $\text{Ct}^+$  é devido protonação do azoto que leva a um aumento do carácter de transferência de carga. A representação da variação da absorvância de cada composto ao comprimento de onda em que a Ct absorve em função do pH leva a uma curva sigmoide de onde é possível retirar os valores de  $\text{pK}_a$ 's, Tabela III.2 e III.3.

**Tabela III 2:** Valores de  $\text{pK}_a$  dos compostos logo após os saltos de pH.

	$\text{pK}_a^{\text{Ct}^{2+}}$	$\text{pK}_a^{\text{Ct}^+}$	$\text{pK}_a^{\text{Ct}}$
<b>Py2</b>	-	1,9	9,4
<b>Py3</b>	-	2,7	9,3
<b>Py4</b>	-	3,2	8,9
<b>7NPy4</b>	2,7	3,7	9,4

**Tabela III 3:** Valores de  $pK_a$  observados das soluções equilibradas dos compostos.

	$pK_{obs1}$	$pK_{obs2}$	$pK_{obs3}$
<b>Py2</b>	-	3,5	-
<b>Py3</b>	-	2,8	9,5
<b>Py4</b>	-	3,6	9,1
<b>7NPy4</b>	2,7	4,3	9,5

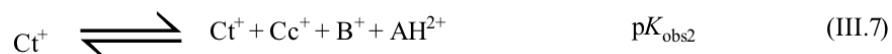
Combinando as técnicas de espectroscopia de absorção UV/Vis e RMN quando uma solução neutra contendo Ct a pH=6-7 é titulada para pH's ácidos e básicos (saltos de pH's), observou-se o pseudo-equilíbrios nos instantes iniciais (cf. Equações III.1, III.2 e III.3).



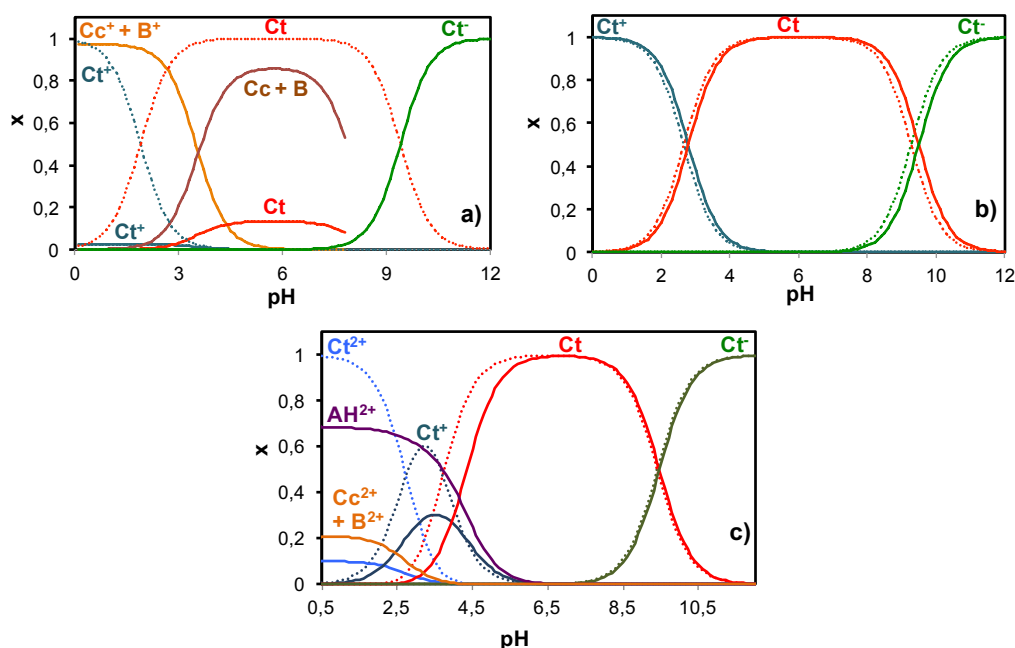
O composto Py2 levou aproximadamente 15 dias para atingir o equilíbrio termodinâmico apresentado nas equações III.4 e III.5.



O composto 7NPy4 levou aproximadamente 1 dia para atingir o equilíbrio termodinâmico apresentado nas equações III.6 e III.7.



A partir das equações de equilíbrio com as respectivas constantes termodinâmicas foi possível representar a distribuição das frações molares das espécies de cada composto, representadas na figura III.17.



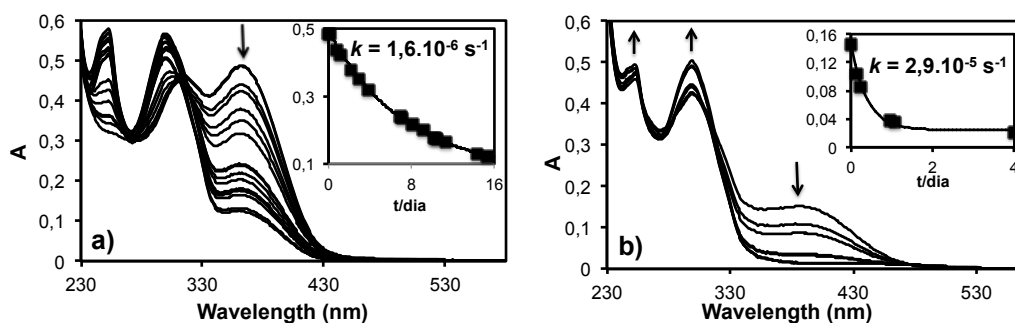
**Figura III. 17:** Distribuição das frações molares das espécies, a pontilhado esta representado o pseudo-equilíbrio que é logo após o salto de pH e as linhas a cheio representam o equilíbrio térmico no escuro: **a)** Fração molar de Py2; **b)** Fração molar de Py3; **c)** Fração molar de 7NPy4.

### III.3.2. Cinética

A cinética das reações dos compostos sintetizados foi estudada através de saltos de pH seguidas ao longo do tempo por espectroscopia de UV/Vis

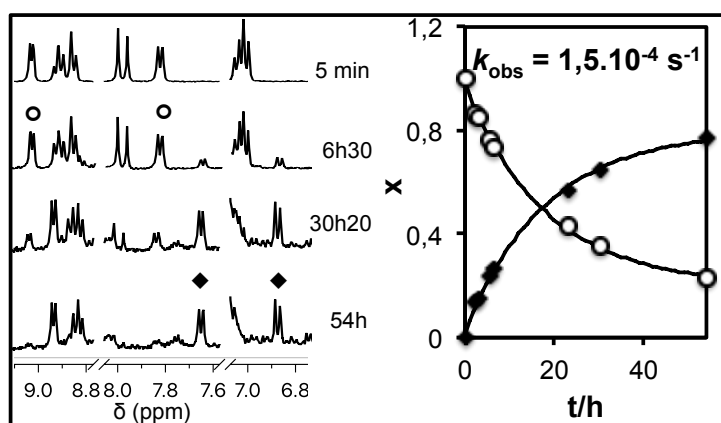
Figura III.18.a). Para o composto Py2 observa-se evolução da Ct para outras espécies a pH=6,2, tal poderá dever-se a um aumento do carácter eletrofílico no carbono carbonilo causado pelas interações por ponte de hidrogénio do oxigénio carbonilo, cf. fig. III.2. A formação da ponte de hidrogénio no carbonilo deslocaliza os eletrões da ligação dupla para o oxigénio o que provoca uma diminuição da densidade eletrónica da dupla C3=C4 permitindo que a ligação gire formando-se a Cc que está em equilíbrio com B. O salto de pH=6,21 a pH=1,31, causa um aumento da constante cinética de aproximadamente 18 vezes para a formação de (Cc<sup>+</sup> + B<sup>+</sup>) em relação a formação de (Cc + B), cf. figura III.18.b).

Na figura III.18, é possível observar no instante inicial a Ct com o máximo de absorção a 365 nm e a Ct<sup>+</sup> com o máximo de absorção desviado ligeiramente para o vermelho (395 nm), cf. Figuras III.18.a e b. A representação gráfica da variação da absorção a 365 nm em função do tempo foi ajustada com uma função mono-exponencial (cinética de 1ª ordem) pelo método dos mínimos quadrados.



**Figura III. 18:** Evolução de  $4,3 \times 10^{-5} \text{ M}$  de Py2 em  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1 v/v) no escuro à temperatura ambiente. **a)** Solução a pH=6,21; **b)** Solução a pH=1,31.

Aumentando a concentração do composto Py2 de  $10^{-5} \text{ M}$  para  $10^{-2} \text{ M}$  em solventes deuterados para estudos por RMN, foi observado o efeito isotópico já antes discutido (III.3.1 Equilíbrio ácido-báse): a Ct a pD=6,6 não evolui para outras espécies (contrariamente ao que se observa em solventes não deuterados (figura III.18.a)). Fazendo salto de pD=6,6 para pD=0,5 a solução evolui de  $\text{Ct}^+$  para o catião flavílio. A evolução foi seguida ao longo do tempo por  $^1\text{H}$  RMN (as representações dos desvios químicos na íntegra encontram-se nos anexos C, figura C1). A representação gráfica da variação da fração molar ao longo do tempo foi ajustada com uma função mono-exponencial (cinética de 1ª ordem) pelo método dos mínimos quadrados (figura III.19).



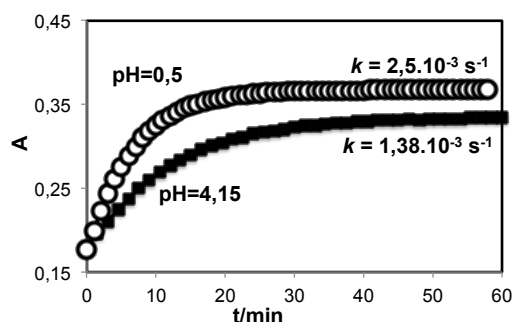
**Figura III. 19:** Evolução de  $8,9 \times 10^{-2} \text{ M}$  de Py2 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) Salto de pD=6,6 para pD=0,5 seguida por  $^1\text{H}$  RMN no escuro,  $\text{A}^+$  (◆) e  $\text{Ct}^+$  (○).

Para o composto Py3 as constantes cinéticas determinadas por salto de pH são quase nulas para as soluções mantidas no escuro, o que pode ser observado nas figura III.10.a) e b).

A velocidade das reações é afetada pela substituição do anel benzênico por piridina na 2-hidroxichalcona, o que causa uma diminuição da nucleofilia do oxigênio fenólico e

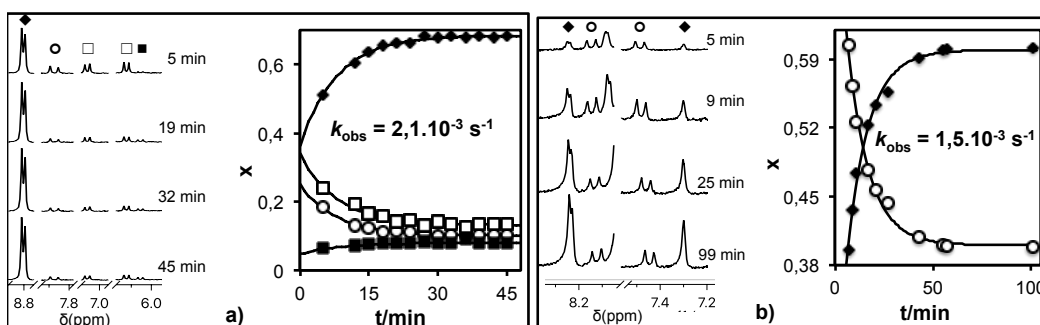
diminuição da eletrofilia do carbono carbonilo, provocando uma diminuição das constantes de isomerização e de tautomerização.<sup>[21]</sup>

Efetuararam-se saltos de pH a partir da solução termicamente equilibrada no escuro do composto 7NPy4 em que a espécie maioritária é a Ct. A figura III.20 apresenta os saltos de pH = 6,5 para pH=4,15 e de pH = 6,5 para pH=0,5, seguidos a comprimentos de onda em que o flavílio absorve, respectivamente 533 nm e 320 nm, na ausência de luz.



**Figura III. 20:** Cinética de formação do cátion flavílio ( $AH^{2+}$ ) seguida a um comprimento de onda: (○) a pH=0,5 seguida a 533 nm; (■) a pH=4,15 seguida 320 nm.

Para o composto 7NPy4 foram feitos estudos cinéticos por  $^1H$  RMN com saltos de pD=6,5 para pD=0,5 e de pD=6,5 para pD=3,6 apresentados na figura III.21 (as representações dos desvios químicos na íntegra encontram-se nos anexos C, figura C2 e C3, respectivamente). As constantes observadas são semelhantes as obtidas por absorção de UV/Vis. As frações molares foram determinadas pela integração dos desvios químicos. A variação da fração molar em função do tempo foi ajustada com uma função mono-exponencial (cinética de 1ª ordem) pelo método dos mínimos quadrados.



**Figura III. 21:** Evolução de  $1,7 \times 10^{-2} M$  de 7NPy4 em  $CD_3OD/D_2O$  (1:1 v/v) seguida por  $^1H$  RMN: a) Salto de pD=6,5 para pD=0,5.  $B^{2+}$  (■),  $Cc^{2+}$  (□),  $Ct^{2+}$  (○) e  $AH^{2+}$  (◆); b) Salto de pD 6,5 para pD 3,6.  $Ct^{+}$  (○) e  $AH^{2+}$  (◆).

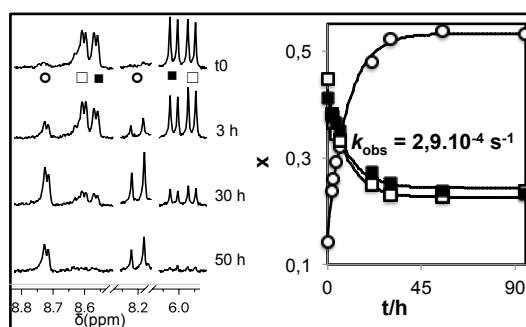
A posição do azoto no anel piridina leva a grandes variações nas constantes cinéticas observadas. A pH neutro o composto Py2 evolui e os compostos Py3, Py4 e



7NPy4 são termicamente estáveis. A pH ácido o composto Py3 não evolui e os compostos Py2, Py4 e 7NPy4 evoluem.

### III.3.3. Fotocromismo

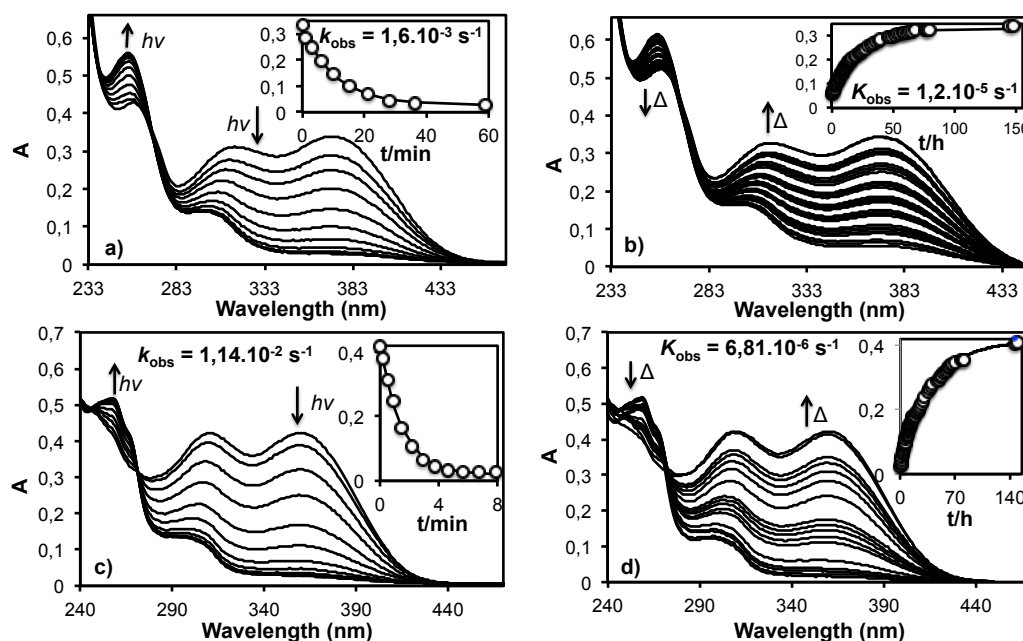
Foram efetuadas irradiações contínuas a 365 nm nas soluções dos compostos Py2, Py3 e 7NPy4 contendo Ct (pH neutro). Observou-se que o composto 7NPy4 não apresenta reações fotoquímicas, pelo que se avançou para os estudos das irradiações com Py2 e Py3. Devido à estabilidade da espécie Ct do composto Py2 em solventes deuterados a pH neutro, a irradiação foi feita em solução de CD<sub>3</sub>OD/D<sub>2</sub>O (1:1 v/v) a pD=5,6 e a recuperação da Ct foi seguida por <sup>1</sup>H RMN (as representações dos desvios químicos na íntegra encontram-se nos anexos C, figura C4). A constante de velocidade de recuperação foi determinada por ajuste da variação da fração molar em função do tempo, cf. figura III.22.



**Figura III. 22:** Recuperação térmica (no escuro), seguida por <sup>1</sup>H RMN de 17 mM de Py2 em CD<sub>3</sub>OD/D<sub>2</sub>O (1:1 v/v) a pD=5,6. Irradiação contínua a 365 nm durante 1 hora.

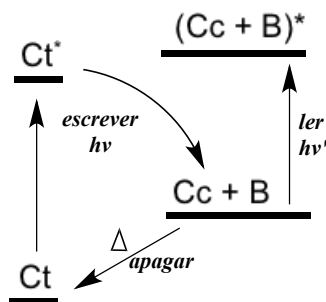
B (■), Cc (□) e Ct (○).

Para o composto Py3, verificou-se a estabilidade térmica das espécies Ct e Ct<sup>+</sup>, pois os valores dos pK<sub>a</sub>'s a t=0 são aproximadamente iguais aos pK<sub>a</sub>'s no equilíbrio, cf. figura III.10. Porém, foi possível fazer estudos fotocromicos a pH=1,31 e pH=6,5. Os produtos da irradiação a 365 nm são maioritariamente B<sup>+</sup> e B, respectivamente. Estes compostos revertem termicamente no escuro para 100% de Ct<sup>+</sup> e Ct, cf. figura III.23.



**Figura III. 23:** Variação espectral de  $4 \times 10^{-5} \text{ M}$  de Py3 em CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (1:1 v/v), irradiação a 360 nm: **a)** Irradiação da solução a pH=1,31; **c)** Irradiação da solução a pH=6,5; **b)** e **d)** Recuperação térmica (no escuro) das soluções a pH=1,31 e pH=6,5, respectivamente.

Com os estudos fotocromicos foi possível definir um sistema geral que realiza ciclos *escrever-ler-apagar* para as piridinochalconas (Py2 e Py3) cf. figura III.24. No qual o passo *escrever* consiste na irradiação da Ct, *ler* é a detecção de (Cc + B) e *apagar* é a recuperação térmica da Ct.



**Figura III. 24:** Ciclo geral escrever-ler-apagar em Piridinochalconas Py2 e Py3.

### III.4. Estudos em solução de $\beta$ -ciclodextrina

A  $\beta$ -CD foi a matriz escolhida para induzir quiralidade, de modo que os fotoprodutos na presença de  $\beta$ -CD tenham um enantiômero preferencial. Para estudar os compostos com a  $\beta$ -CD começou-se por determinar as constantes de associação e avançou-se para testes fotoquímicos com adição da  $\beta$ -CD antes e depois da irradiação.

Os compostos Py2, Py3 e Py4 formam complexos com a  $\beta$ -CD com base na equação da figura III.25. Prepararam-se soluções de Ct a  $4,4 \times 10^{-5}$  M em  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (0,05:0,95 v/v) a pH aproximadamente neutro (entre 5,5 e 6,6). Trabalhou-se a pH neutro para potenciar as interações por ponte de hidrogénio e hidrofóbicas responsável pela formação do complexo entre o substrato e a  $\beta$ -CD. Trabalhou-se com 5% de metanol em água para evitar a competitividade pela cavidade da  $\beta$ -CD entre o soluto e o solvente.

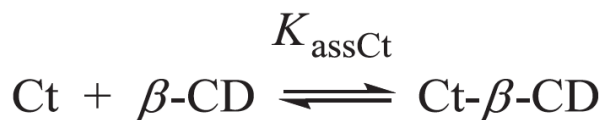


Figura III. 25: Associação da Ct com a  $\beta$ -CD.<sup>[10]</sup>

A figura III.26 apresenta as constantes de associação determinadas pelo ajuste da variação da absorvância de  $4,4 \times 10^{-5}$  M Ct em função da variação da concentração de  $\beta$ -CD.

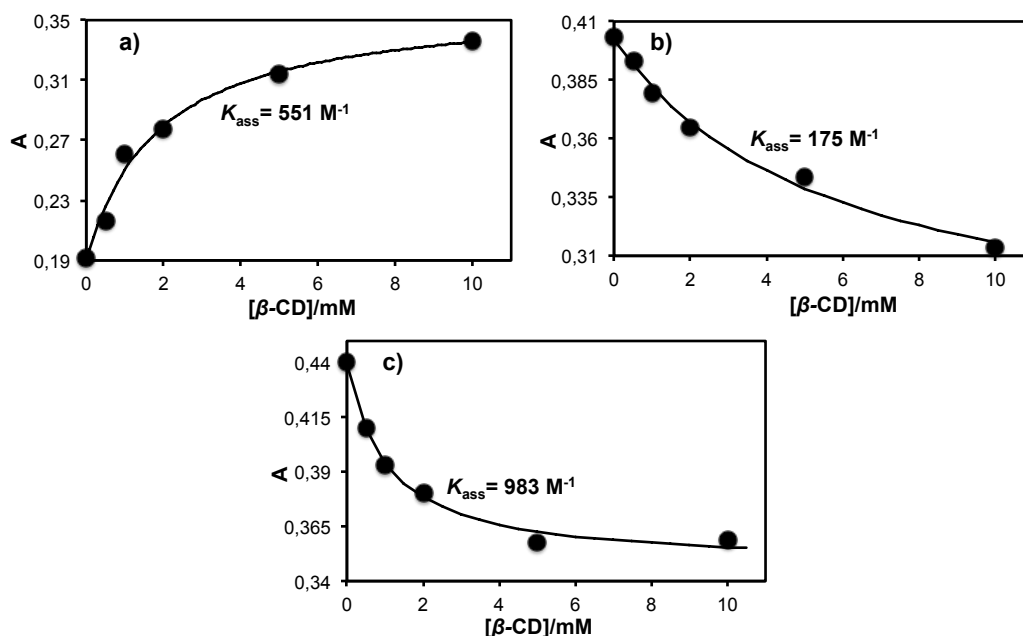
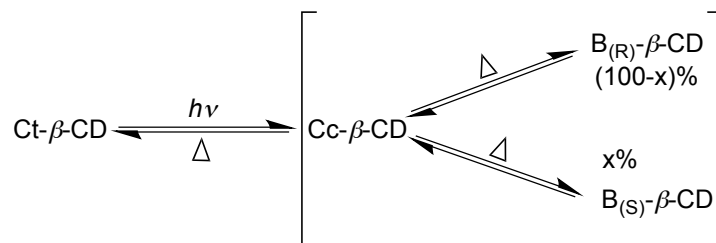


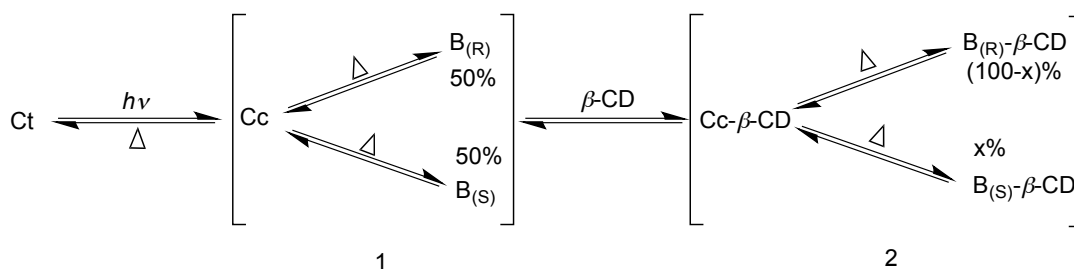
Figura III. 26: Variação da absorção de  $4,4 \cdot 10^{-5}$  M de Ct em função da concentração de  $\beta$ -ciclodextrina em  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  (0,05:0,95): **a)** Py2 pH=5,5; **b)** Py3 pH=6,6; **c)** Py4 pH=6,6.

Os testes fotoquímicos com a irradiação dos compostos em solução na ausência e presença de  $\beta$ -CD foram seguidos por  $^1\text{H}$  RMN. Para cada composto irradiou-se a 365 nm durante 4 horas uma solução de 8,9 mM de Ct com 10 mM de  $\beta$ -CD em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) a pD entre 5,5 e 6,6 com base o esquema da figura III.27.



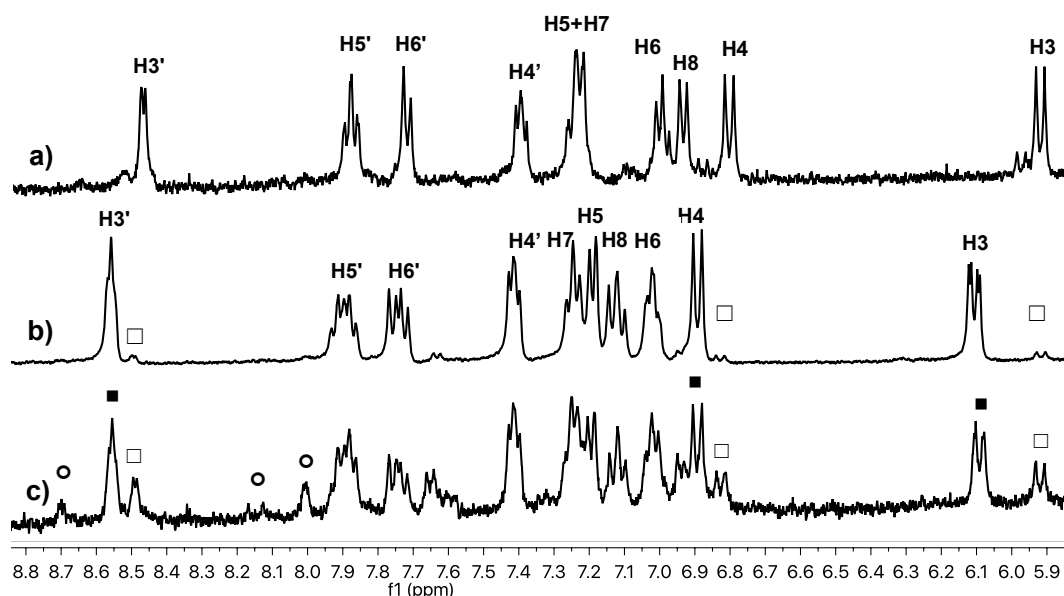
**Figura III. 27:** Fotoquímica em presença de  $\beta$ -CD.

Na ausência de  $\beta$ -CD, irradiou-se a 365 nm durante 2 h uma solução 8,9 mM de Ct em  $\text{CD}_3\text{OD}$  leva à formação de Cc e a posterior tautomerização (térmica) para ~100% de B, passo 1 do esquema da figura III.28. Em 200 $\mu\text{L}$  da solução equilibrada foi adicionado 200 $\mu\text{L}$  de  $\beta$ -CD 10 mM em  $\text{D}_2\text{O}$ , passo 2 do esquema na figura III.28.



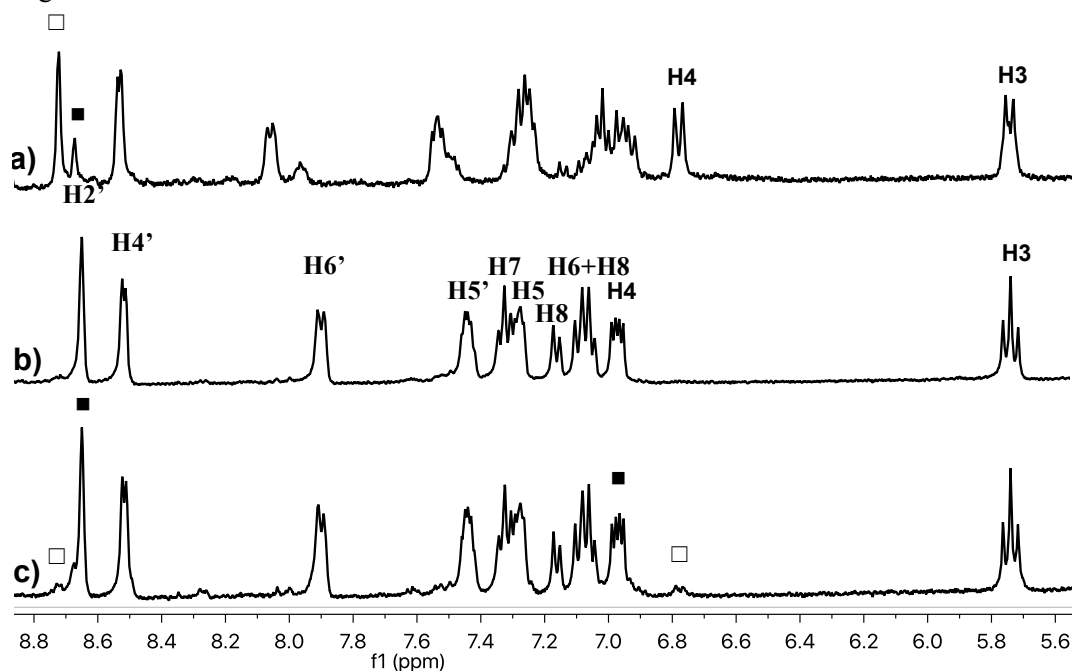
**Figura III. 28:** Fotoquímica com adição de  $\beta$ -CD depois da irradiação.

A figura III.29 apresenta os espectros de  $^1\text{H}$  RMN do composto Py2 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) a pD=5,6. Foi observado que irradiando a Ct a 365nm na presença de  $\beta$ -CD forma-se vestígios de B no fotoproduto, fig.III.29.a. Quando adicionada  $\beta$ -CD numa solução de B observa-se que os prótons H3', H5', H6', H8 e H passam a ter multiplicidade de desvios químicos diferente causados pela diferença de ambiente magnético entre os dois enantiômeros, figura III.29.b.



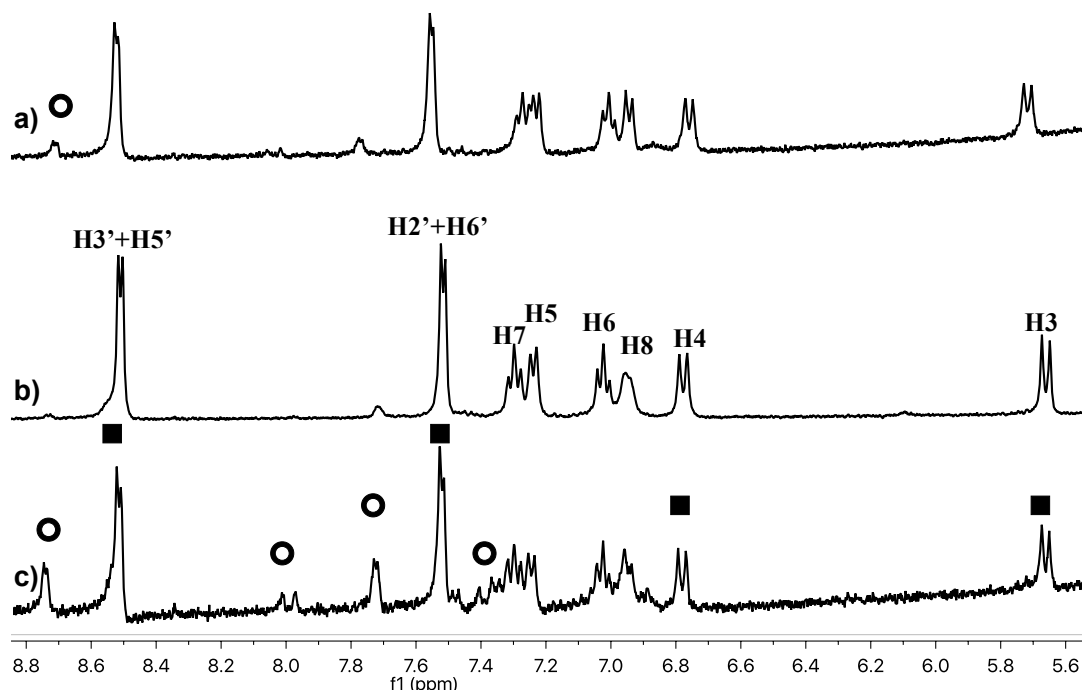
**Figura III. 29:** Espectros de  $^1\text{H}$  RMN de 8,9 mM de Py2 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) irradiado a 365 nm; **a)** Espectro da solução irradiada em presença de  $\beta$ -CD; **b)** Espectro da solução em que a  $\beta$ -CD foi adicionada a solução equilibrada de B; **c)** Espectro da solução (b) 24 h no escuro, referência para identificar as espécies: B (■), Cc (□), Ct (○).

A figura III.30 apresenta os espectros de  $^1\text{H}$  RMN do composto Py3 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) a  $\text{pD}=6,6$ . Foi observado que na Ct irradiada em presença de  $\beta$ -CD forma-se 21% de B no fotoproducto maioritariamente está presente Cc, cf. fig.III.30.a). Quando se adiciona  $\beta$ -CD a uma solução de B observa-se que os prótons H4 e H3 passam a ter multiplicidade de desvios químicos diferentes causada pela diferença de ambiente magnético entre os enantiômeros.



**Figura III. 30:** Espectros de  $^1\text{H}$  RMN de 8,9 mM de Py3 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) irradiado a 365 nm; **a)** Espectro da solução irradiada em presença de  $\beta$ -CD; **b)** Espectro da solução em que a  $\beta$ -CD foi adicionada à solução equilibrada de B; **c)** Espectro da solução (b) 24 h no escuro, referência para identificar as espécies: B (■) e Cc (□).

A figura III.31 apresenta os espectros de  $^1\text{H}$  RMN do composto Py4 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) a  $\text{pD}=6,6$ . Foi observado que a Ct quando irradiada em presença de  $\beta\text{-CD}$  durante 4 horas forma  $\sim 90\%$  de B, cf. fig.III.31.a. Quando se adiciona  $\beta\text{-CD}$  a uma solução de B não se altera a multiplicidade dos desvios químicos, o que pode ser explicado pela liberdade rotacional da ligação entre a piridina e o centro assimétrico, fazendo com que os prótons sintam o mesmo ambiente químico e magnético em ambos os enantiômeros.

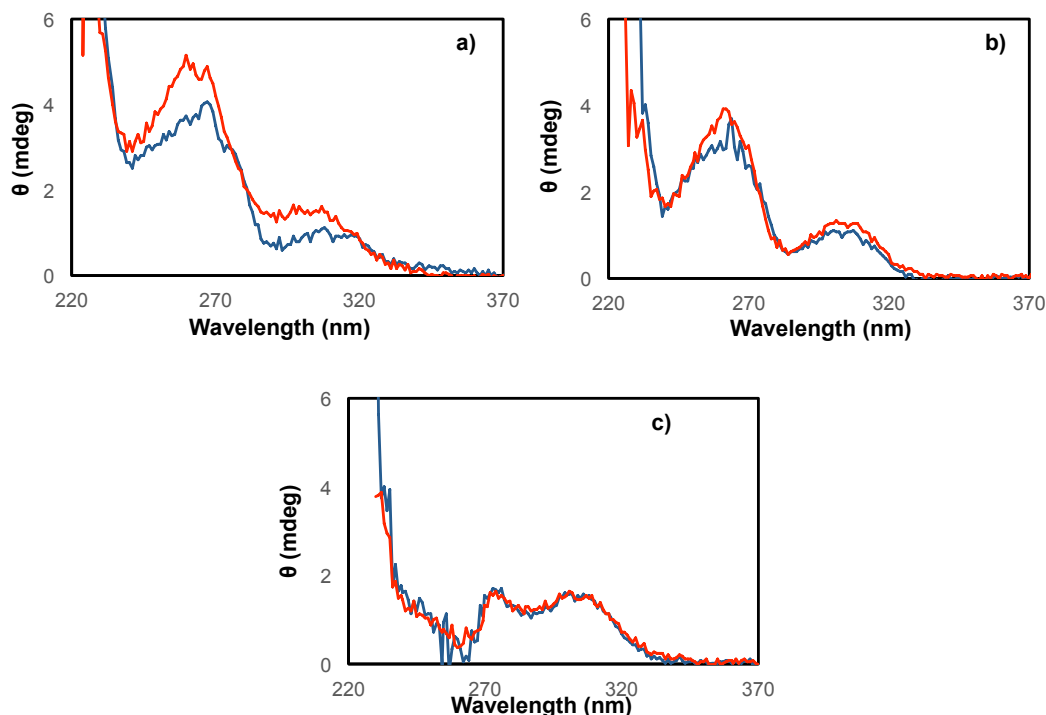


**Figura III. 31:** Espectros de  $^1\text{H}$  RMN de 8,9 mM de Py4 em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) irradiado a 365 nm; **a)** Espectro da solução irradiada em presença de  $\beta\text{-CD}$ ; **b)** Espectro da solução em que a  $\beta\text{-CD}$  foi adicionada a solução equilibrada de B; **c)** Espectro da solução (b) 24 h no escuro, referência para identificar as espécies: B (■) e Ct (○).

### III.5. Dicroísmo circular

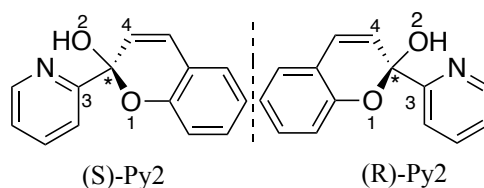
Uma solução 2,2 mM de Ct em  $\text{CH}_3\text{OH}$  foi irradiada durante 45 minutos (passo 1 da Figura III.28). O resultado por dicroísmo circular foi nulo o que demonstra que o hemicetal não apresenta atividade ótica na ausência de  $\beta\text{-CD}$ , por ser uma mistura racêmica. No Passo 2, 15  $\mu\text{L}$  da solução 1 foram adicionados a 3 mL de  $\beta\text{-CD}$  10 mM. Foi observado sinal do hemicetal para o composto Py2 e Py3, sinal de que um dos estereoisômeros se formou preferencialmente devido à seletividade para formação de complexo com a  $\beta\text{-CD}$ . Os resultados obtidos por CD estão de acordo com o princípio geral de síntese assimétrica que diz: “Reagentes opticamente inativos formam exclusivamente produtos sem atividade ótica, a menos que seja adicionado um elemento de assimetria no meio da reação, para obter-se produtos opticamente ativos”<sup>[22]</sup>, em que só foi possível observar fotoindução quiral em presença da matriz quiral ( $\beta\text{-CD}$ ).

A utilização de dicroísmo circular permitiu observar a fotoindução quiral (figura III.32.a e b) por dois estudos muito semelhantes baseados na alternância entre a irradiação e a adição de  $\beta$ -CD (discutido no subcapítulo anterior). Os espectros de CD na integra para os compostos Py2, Py3 e Py4 encontram-se representados nos Anexos D, figura D1.



**Figura III. 32:** Espectros de CD com a  $\beta$ -CD antes (vermelho) e depois (azul) da irradiação continua a 365 nm durante 45 minutos: **a)** Py2; **b)** Py3; **c)** M Py4.

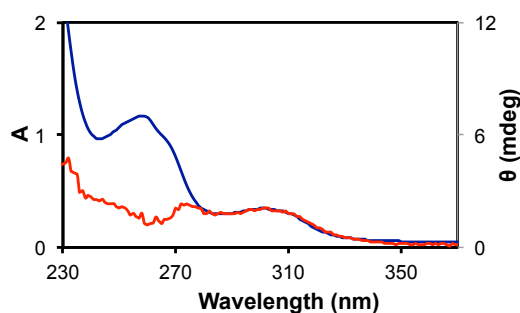
Os estudos realizados por CD permitiram alcançar o objectivo final do trabalho. O sinal de dicroísmo circular é positivo quando o composto absorve maioritariamente a luz polarizada para a esquerda ( $A_L > A_R$ ), cf equação I.1. Na figura III.32 pode observar-se sinais de dicroísmo circular positivos demonstram que em ambos os ensaios o complexo Py2 e Py3 absorveram maioritariamente a luz polarizada para a esquerda (formou-se preferencialmente o enantiómero (-)). O *ee* é maior quando se irradia o substrato em presença do recetor quiral ( $\beta$ -CD) porque no complexo o processo de ciclização (tautomerização) é seletivo, isto é, o anel fecha pela face menos impedida. A figura III.33 apresenta os enantiómeros da espécie B do composto Py2.



**Figura III. 33:** Estruturas dos enantiómeros (S) e (R) do composto Py2.

Os resultados da figura III.32 demonstram que o *ee* diminui ao distanciar o azoto do centro assimétrico, sendo nulo para o Py4 (*ee*, Py2 > Py3 > Py4). A não seletividade no composto Py4 pode ser explicada pela formação de uma mistura racémica de B sem atividade ótica que deve-se ao grau de liberdade rotacional da ligação do anel piridina-carbonilo que mesmo interagindo com a  $\beta$ -CD permite a formação dos enantiômeros na mesma proporção (mistura racémica, *ee*=0). Para o composto Py4 em ambos os testes foi observado o sinal de dicroísmo circular induzido (CDI) da Cc, cf figura III.32.c).

A figura III.33. apresenta os espectros de absorção e de dicroísmo circular para uma mesma solução. Para os espectros traçados em simultâneo observa-se maior fração molar de B em relação a Cc por absorção UV/Vis mas, por CD não foi observada a banda de absorção de B o que indica a formação de um produto sem atividade ótica (mistura racémica), cf. Figura III.33.



**Figura III. 34:** Espectros de absorção (azul) e dicroísmo circular (vermelho) de  $1,1 \cdot 10^{-4}$  M de Py4 em CH<sub>3</sub>OH/H<sub>2</sub>O (0,05:0,95 v/v), espectros obtidos no Chirascan v.4.5.1752.0 Build em simultâneo.



#### IV. Conclusão

As sínteses de novas piridinochalconas foram conseguidas com elevado grau de pureza e bom rendimento. Foram obtidos cristais para todos os compostos. Todos os compostos tiveram uma elucidação estrutural por cristalografia de raios-X.

A pH suficientemente ácido os sistemas de reações químicas dos compostos Py2 e 7NPy4 apresentam os catiões flavílios ( $A^+$  e  $AH^{2+}$ , respetivamente) como espécies termicamente estáveis.

Dos compostos sintetizados e estudados apenas o 7NPy4 não é fotocromico. Para os compostos fotocromicos Py2, Py3 e Py4 a irradiação da Ct a 365 nm produz B por dois processos fotoquímicos: Primeiro a fotoisomerização  $Ct \rightarrow Cc$  seguida por tautomerização  $Cc \rightarrow B$ . Estes compostos são bons para efetuar ciclos *escrever-ler-apagar*. Os composto Py2 e Py4 descrevem ciclos multiestados *escrever-trancar-ler-destrancar-apagar*. Para o composto Py2 tranca-se o ciclo no catião flavílio por acidificação da solução. Tranca-se o composto Py4 por protonação do hemicetal. Não é possível trancar o composto Py3, mesmo a pH ácido o sistema anda para trás (recupera-se a  $Ct^+$ ).

Na combinação do fotocromismo com o recetor quiral ( $\beta$ -CD) obteve-se excesso do enantiómero(-) que absorve a luz polarizada para a esquerda nos compostos Py2 e Py3. Obtém-se maior *ee* quando a fotoindução quiral dá-se por irradiação da Ct em presença de  $\beta$ -CD. A interação do carbonilo com a  $\beta$ -CD permite a obtenção de maior *ee* (Py2). O *ee* diminui ao distanciar o ponto de interação por ponte de hidrogénio com a  $\beta$ -CD do centro assimétrico (*ee*,  $Py2 > Py3 > Py4$ ). No composto Py4, o grau de liberdade rotacional da ligação do anel piridina-carbonilo mesmo interagindo com a  $\beta$ -CD permite a formação dos enantiómeros na mesma proporção (mistura racémica, *ee*=0).

As piridinochalconas constituem novos materiais com aplicações potenciais em sistemas de memória molecular e sistemas oticamente ativos.



## V. Bibliografia.

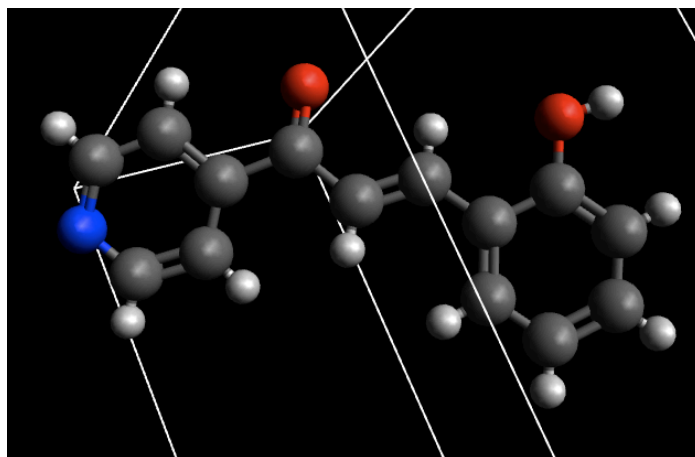
- [1] Costa, A. (1996). Simetria e Quiralidade Moleculares. *Química - Boletim Da SPQ*, 60, 33–40.
- [2] Barreiro, E., Ferreira, V., & Costa, P. (1997). Pure enantiomeric substances: the question of chiral drugs. *Química Nova*, 20, 647–656.
- [3] Coelho, F. (2001). Fármacos e Quiralidade. *Cadernos Temáticos de Química Nova Na Escola*, 3, 23–32.
- [4] Paiva, A. (2006). O fenómeno da quiralidade. *Química - Boletim Da SPQ*, 103, 56–61.
- [5] Pilli, R. (2001). Catálise Assimétrica. *Química Nova Na Escola*, 14, 16–24.
- [6] Del Valle, E. M. M. (2003). Cyclodextrins and their uses: A review. *Process Biochemistry*, 39, 1033–1046.
- [7] Oliveira, R., Santos, D., & Coelho, P. (2009). Ciclodextrinas: formação de complexos e sua aplicação farmacêutica. *Revista Da Faculdade de Ciências Da Saude*, 6, 70–83.
- [8] Kelly, S. M. M. M., & Price, N. C. C. C. (2000). The use of circular dichroism in the investigation of protein structure and function. *Current Protein & Peptide Science*, 1, 349–84.
- [9] Corrêa, D. H. A., & Ramos, C. H. I. (2009). The use of circular dichroism spectroscopy to study protein folding, form and function. *African Journals of Biochemistry Research*, 3, 164–173.
- [10] Gago, S., Basílio, N., Fernandes, A., Freitas, V., Quintas, A., & Pina, F. (2014). Photochromism of the complex between 4'-(2-hydroxyethoxy)-7- hydroxyflavylium and b-cyclodextrin, studied by <sup>1</sup>H NMR, UVeVis, continuous irradiation and circular dichroism. *Dyes and Pigments*, 110, 106–112.
- [11] Pina, F., Melo, M. J., Laia, C. A. T., Parola, A. J., & Lima, J. C. (2012). Chemistry and applications of flavylium compounds: a handful of colours. *Chemical Society Reviews*, 41, 869–908.
- [12] Monteiro, H. (2016). *Estudo da interação de flavílios com ácidos nucleicos*. (Msc) Universidade Nova de Lisboa, pp. 14-16
- [13] Rawat, M. S. M., Mal, S., & Singh, P. (2015). Photochromism in Anils - A Review. *Open Chemistry Journal*, 2, 7–19.
- [14] Roque, A. (2001). *Dispositivos Moleculares com base em Sistemas Fotocrómicos*. (PhD) Universidade Nova de Lisboa, pp. 2-10
- [15] Diniz, A. (2008). *Síntese e Estudo de Flavílios com Novas Funcionalidades*. (Msc). Universidade Nova de Lisboa, pp. 18-21

- [16] Avó, J. (2009) *Síntese de sais de benzopirílio e aplicação como sensores fluorescentes e grupos protectores fotocliváveis*. (Msc). Universidade Nova de Lisboa, pp. 16-19
- [17] Fujiki, M. (2014). Supramolecular chirality: Solvent chirality transfer in molecular chemistry and polymer chemistry. *Symmetry*, 6, 677–703.
- [18] Reynolds, J. E., Josowicz, M., Tyler, P., Vegh, R. B., & Solntsev, K. M. (2013). Spectral and redox properties of the GFP synthetic chromophores as a function of pH in buffered media. *Chemical Communications (Cambridge, England)*, 49, 7788–90.
- [19] Atkins, P., Overton, T., Rourke, J., Weller, M., Armstrong, F., & Hagerman, M. (2010) *Inorganic Chemistry* (5th ed.). Great Britain: Oxford University Press, pp. 223-226
- [20] Mauro, F. (2001). Espectrometria de Massa de Electrospray - Técnica do Presente e do Futuro. *Soquímica*, pp. 36–42.
- [21] Leydet, Y., Jorge Parola, A., & Pina, F. (2010). Hydroxypyridinechromene and pyridinechalcone: Two coupled photochrom systems. *Chemistry - A European Journal*, 16, 545–555.
- [22] Pimentel, F. (2011). *Síntese de Ligandos Quirais para Alquilação Enantiosselectiva de Aldeídos e Reacção de Strecker Assimétrica*. (Msc)Universidade de Coimbra, p.1

## VI. Anexos

### Anexo A

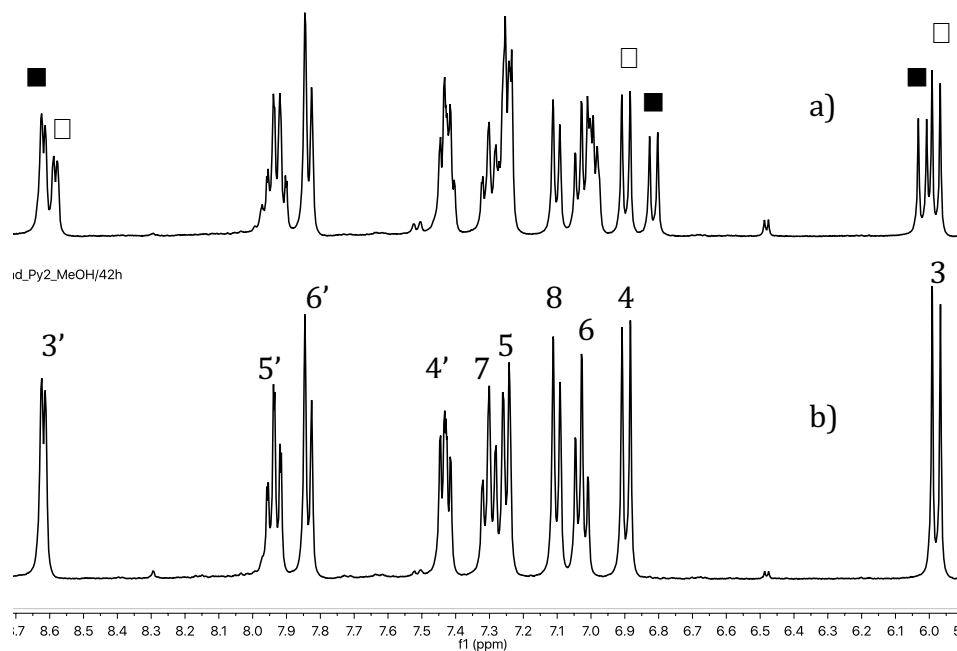
Neste anexo é apresentada a estrutura cristalina do composto Py4 resolvida por cristalografia de raios-X, cf. figura A1.



**Figura A. 1:** Estrutura cristalina do composto Py4.

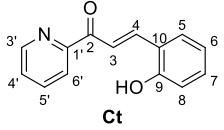
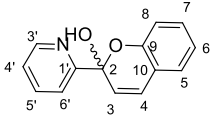
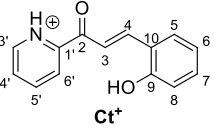
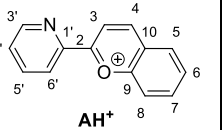
## Anexos B

A Figura B1 apresenta os espectros de 17 mM de Py2 em CD<sub>3</sub>OD irradiado durante 2 horas. A tabela B1 apresenta os desvios químicos de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C-RMN para as espécies Ct, B, Ct<sup>+</sup> e A<sup>+</sup>.

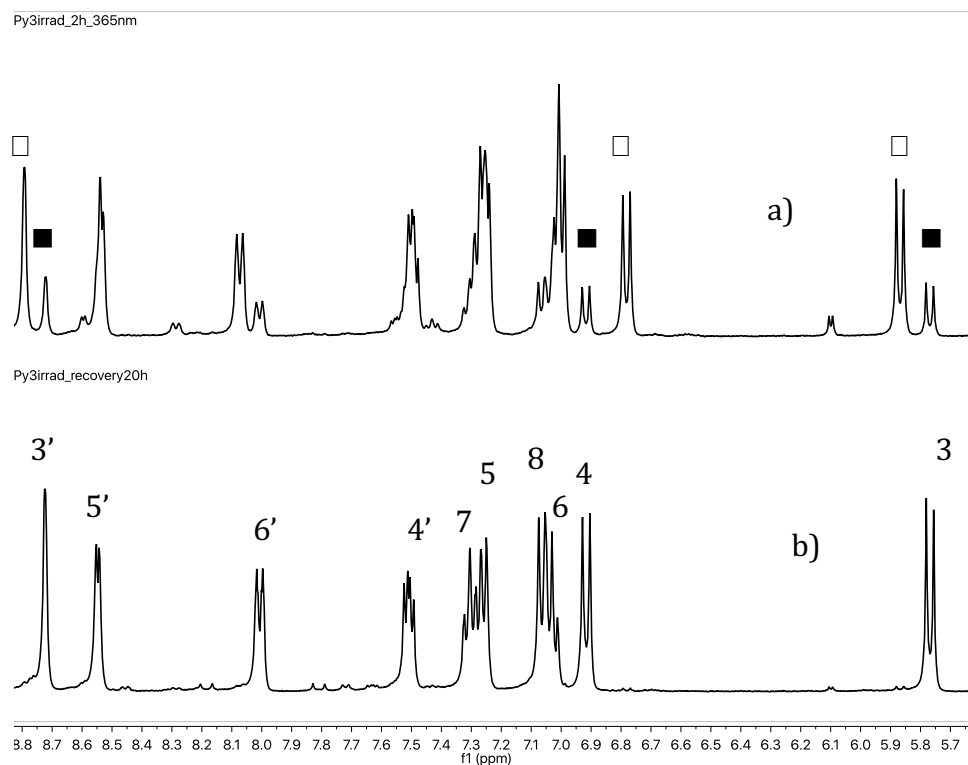


**Figura B. 1:** Espectros de <sup>1</sup>H RMN de 2-Piridinachalcona 17 mM em CD<sub>3</sub>OD. a) irradiado a 365 nm durante 2h (41%(□)Ct e 59%(■)B). b) equilibrado no escuro 100% B.

**Tabela B. 1:** Atribuições de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN para Py2 em solução de  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  a  $\text{pD}=5,6$  (B foi em  $\text{CD}_3\text{OD}$ ).

Posição					
$^1\text{H}$ $\delta/\text{ppm}$ (J/Hz)	3	8,29(t,16.0)	5.98(d,9.8Hz)	7.98 (d, 15.6)	7.08 (t,)
	4	8,29(t,16.0)	6.90(d,9.7Hz)	8.42 (d, 15.6)	7.41(t,)
	5	7.72(d)	7.25(dd,7.5,1.6Hz)	7.82 (dd, 7.9, 1.8)	7.65 (d, )
	6	6.91(dd, 8.1)	7.30(td,7.8,1.7Hz)	6.97 (m, H6+H8)	7.08 (t,)
	7	7.28(td, 7.8)	7.03(td,7.4,1.1Hz)	7.39 (m)	7.41 (t,)
	8	6.91(dd, 6.7)	7.10(d,8.1Hz)	6.97 (m, H6+H8)	6.87 (d,8.1)
	3'	8.16 (d,7.8)	8.65(d,-)	9.03 (d,)	8.94 (d, 6.1 Hz)
	4'	8.01 (td,7.7)	7.43 (ddd,-)	8.92 (td,)	8.34 (t, 7.0 Hz)
	5'	7.62 (ddd,7.6)	7.94 (td,-)	8.36 (ddd, -)	8.83 (t, 7.8 Hz)
	6'	8.76	7.84 (dt, 8.0, 1.2)	8.85 (d, 7.9 )	8.54 (d, 8.0 Hz)
$^{13}\text{C}$ $\delta/\text{ppm}$	2	190.06	99.5		
	3	119.90	122.4		
	4	140.84	126.3		
	5	128.55	126.8		
	6	119.45	121.5		
	7	131.84	129.6		
	8	115.73	115.6		
	9	157.60	152.33		
	10	121.94	119.8		
	1'	154.32	158.9		
	3'	122.52	148.7		
	4'	137.32	123.5		
	5'	126.98	137.5		
	6'	148.67	121.4		

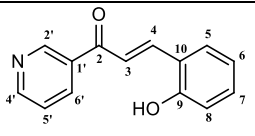
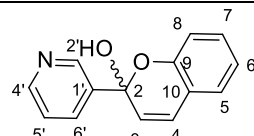
A Figura B2 apresenta os espectros de 17 mM de Py3 em CD<sub>3</sub>OD irradiado durante 2 horas. A tabela B2 apresenta os desvios químicos de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C-RMN para as espécies Ct em CD<sub>3</sub>OD/D<sub>2</sub>O (1:1 v/v) a pD=6,6 e B em CD<sub>3</sub>OD.



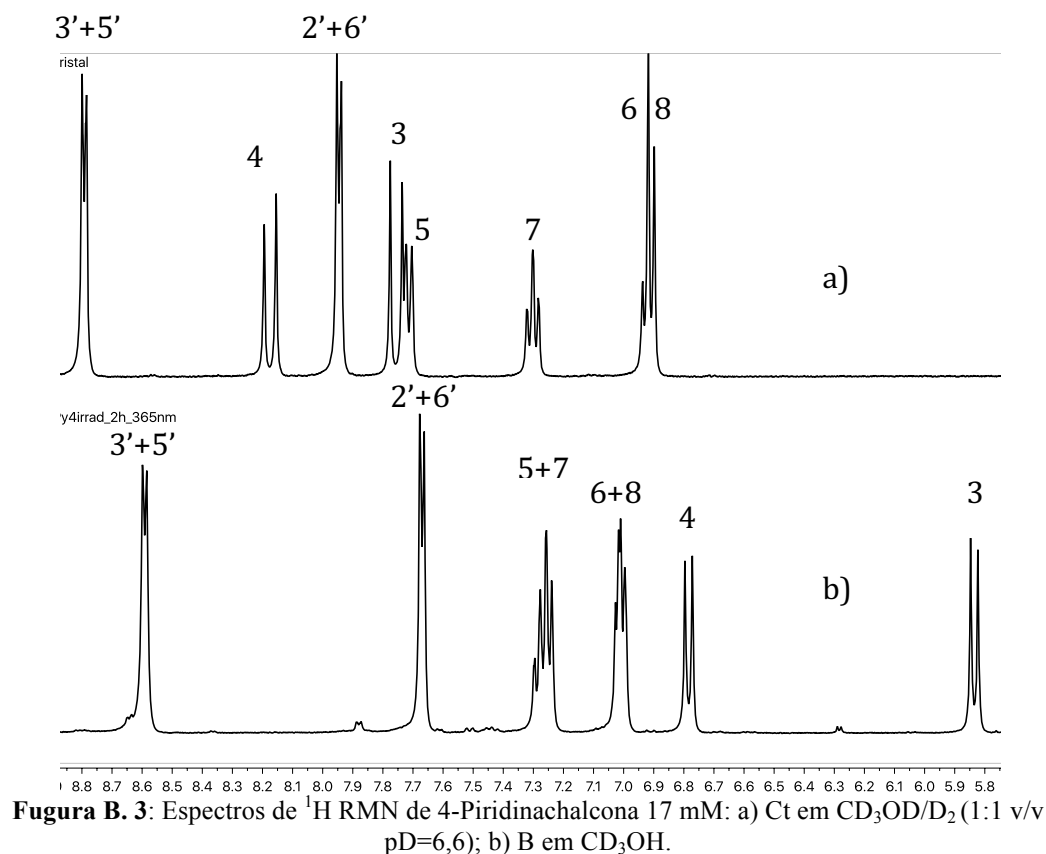
**Figura B. 2:** Espectros de <sup>1</sup>H RMN de 17 mM de Py3 em CD<sub>3</sub>OD. a) irradiado a 365 nm durante 2h (75%(□)Cc e 25%(■)B). b) equilibrado no escuro 100% B



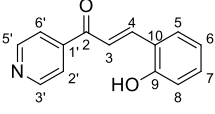
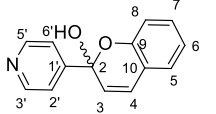
**Tabela B. 2** Atribuições de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN para 3-Piridinachalcona em solução de MeOD a pD=6,6, Os espectros foram corridos a 300,0K, a 400 Hz ( $^1\text{H}$ ) e 100 Hz ( $^{13}\text{C}$ ).

Posição		 Ct	 B
$^1\text{H}$ $\delta/\text{ppm (J/Hz)}$	3	7.81 (d, 15.7)	5.77 (d, 9.8 Hz)
	4	8.18 (d, 15.8)	6.92 (d, 9.8 Hz)
	5	7.72 (dd, 8.0)	7.3 (m, H5+H7)
	6	6.92 (t, 7.7)	7.05 (m, H6+H8)
	7	7.28 (dd, 7.8)	7.3 (m, H5+H7)
	8	6.92 (t, 7.7)	7.05 (m, H6+H8)
	2'	9.19 (s, 2.3)	8.72 (s)
	4'	8.46 (td, 8.0)	8.55 (dd, 5.0, 1.7 Hz)
	5'	7.63 (dd, 8)	7.51 (dd, 8.1, 4.8 Hz)
	6'	8.77 (dd, 4.9)	8.01 (dt, 8.0, 2.1 Hz)
$^{13}\text{C}$ $\delta/\text{ppm}$	2	189.80	
	3	120.66	
	4	142.23	
	5	129.26	
	6	119.51	
	7	132.08	
	8	115.75	
	9	157.72	
	10	121.45	
	1'	134.16	
	2'	148.80	
	4'	136.42	
	5'	129.26	
	6'	152.03	

A figura B3 apresenta os espectros das espécies Ct e B do composto Py4. A tabela B3 apresenta os desvios químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -RMN para as espécies Ct em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  1:1 (v/v pD=6,6) e B em  $\text{CD}_3\text{OD}$ .

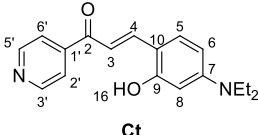
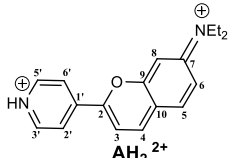


**Tabela B. 3:** Atribuições de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN para 4-Piridinachalcona em solução de MeOD a pD=6,6, Os espectros foram corridos a 300,0K, a 400 Hz (1H) e 100 Hz (13C).

Posição		 Ct	 B
$^1\text{H}$ $\delta/\text{ppm}$ (J/Hz)	3	7.76 (d, 16.0 Hz)	5.83(d, 9.7Hz)
	4	8.17 (d, 15.8 Hz)	6.78 (d, 9.8Hz)
	5	7.71 (d, 8.1Hz)	7.27 (ddd, 15.8, 7.9, 1.7 Hz H5+H7)
	6+8	6.92 (t, 7.7 Hz)	7.05(m)
	7	7.30 (t, 7.8Hz)	
	3'+5'	8.8(d, 5.7Hz)	8.6(d, 5.9Hz)
	2'+6'	7.95(d, 5.7Hz)	7.67(d, 5.9Hz)

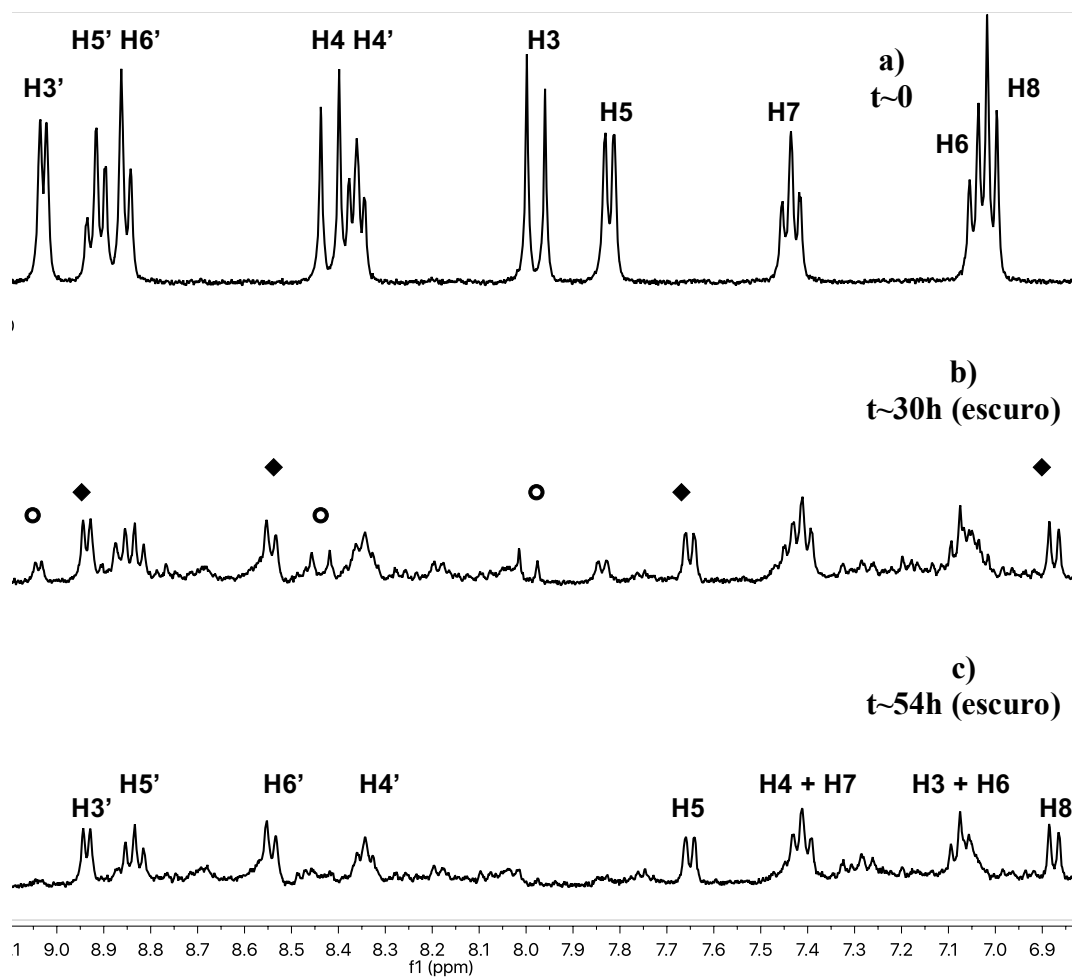
A tabela B4 apresenta os desvios químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -RMN de 7NPy4 para as espécies Ct e  $\text{AH}^{2+}$  em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) a pH = 6,6 e 0,5 respectivamente.

**Tabela B. 4:** Atribuições de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  RMN para 7-(*N,N*-dietilamina)-4-Piridinachalcona em solução de MeOD a pD=6,6, Os espectros foram corridos a 300,0K, a 400 Hz ( $^1\text{H}$ ) e 100 Hz ( $^{13}\text{C}$ ).

Posição		 Ct	 AH <sub>2</sub> 2 <sup>+</sup>
$^1\text{H}$ $\delta/\text{ppm}$ (J/Hz)	3	7.53 (t,16.0)	8.19(d,7.8 Hz)
	4	8.18 (d,16.0)	8.62(d,7.6 Hz)
	5	7.64 (d, 8.9)	8.03(d, 9.8 Hz)
	6	6.37 (d, 8.9)	7.66 (dd, 10.0, 2.3 Hz)
	8	6.29 (s)	7.33(s)
	2'e6'	7.86 (d,-)	8.8 (d,-)
	3'e5'	8.80 (d,-)	9.08 (d,-)
	2CH <sub>2</sub>	3.44 (q,7.1)	3.44 (q,7.1)
	2CH <sub>3</sub>	1.19 (t,7.0)	1.19 (t,7.0)
	OH	9.02(s)	9.02(s)
$^{13}\text{C}$ $\delta/\text{ppm}$	2	188.34	
	3	114.37	
	4	142.56	
	5	131.09	
	6	104.82	
	7	110.02	
	8	97.47	
	9	151,73	
	10	157,60	
	1'	145.69	
	2'e6'	121.28	
	3'e5'	150.53	
	2CH <sub>2</sub> 2CH <sub>3</sub>	44.22 12.05	

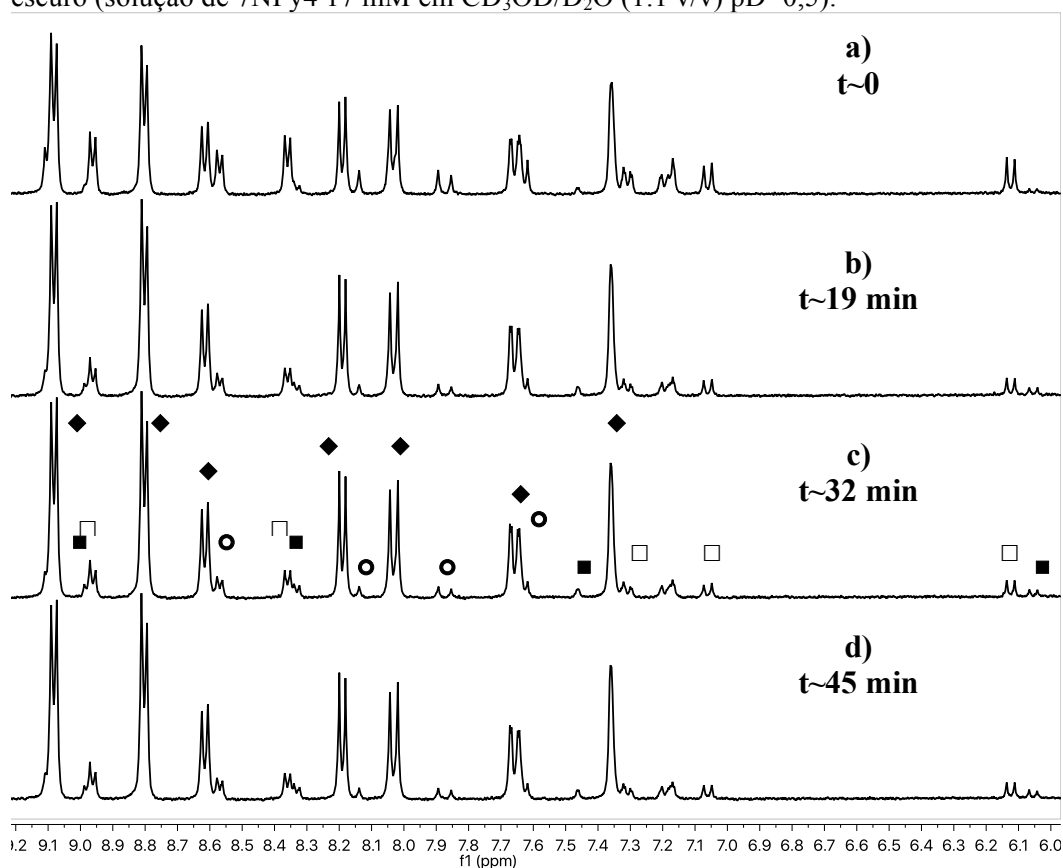
## Anexo C

A Figura C1 apresenta a formação de  $A^+$  a partir da  $Ct^+$  seguida por  $^1H$  RMN no escuro (solução de Py2 8,9 mM em  $CD_3OD/D_2O$  (1:1 v/v)  $pD=0,5$ ).



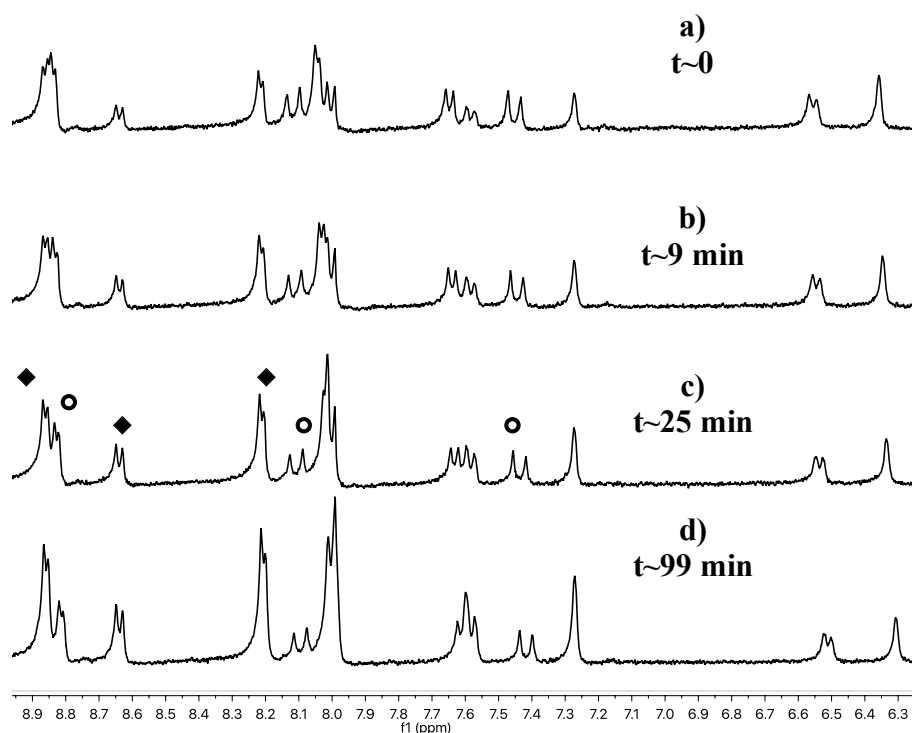
**Figura C. 1:** Evolução da  $Ct^+$  ao flavílio: **a)** Após o salto de  $pD$  observa-se  $\sim 100\%$  de  $Ct^+$ . **b)** Passadas 30h é possível identificar as espécies  $A^+$  (◆) e  $Ct^+$  (○). **c)** Solução na ausência da luz em 54 horas observa-se majoritariamente  $A^+$ .

A Figura C2 apresenta a formação de  $AH^{2+}$  a partir da  $Ct^+$  seguida por  $^1H$  RMN no escuro (solução de 7NPy4 17 mM em  $CD_3OD/D_2O$  (1:1 v/v)  $pD=0,5$ ).



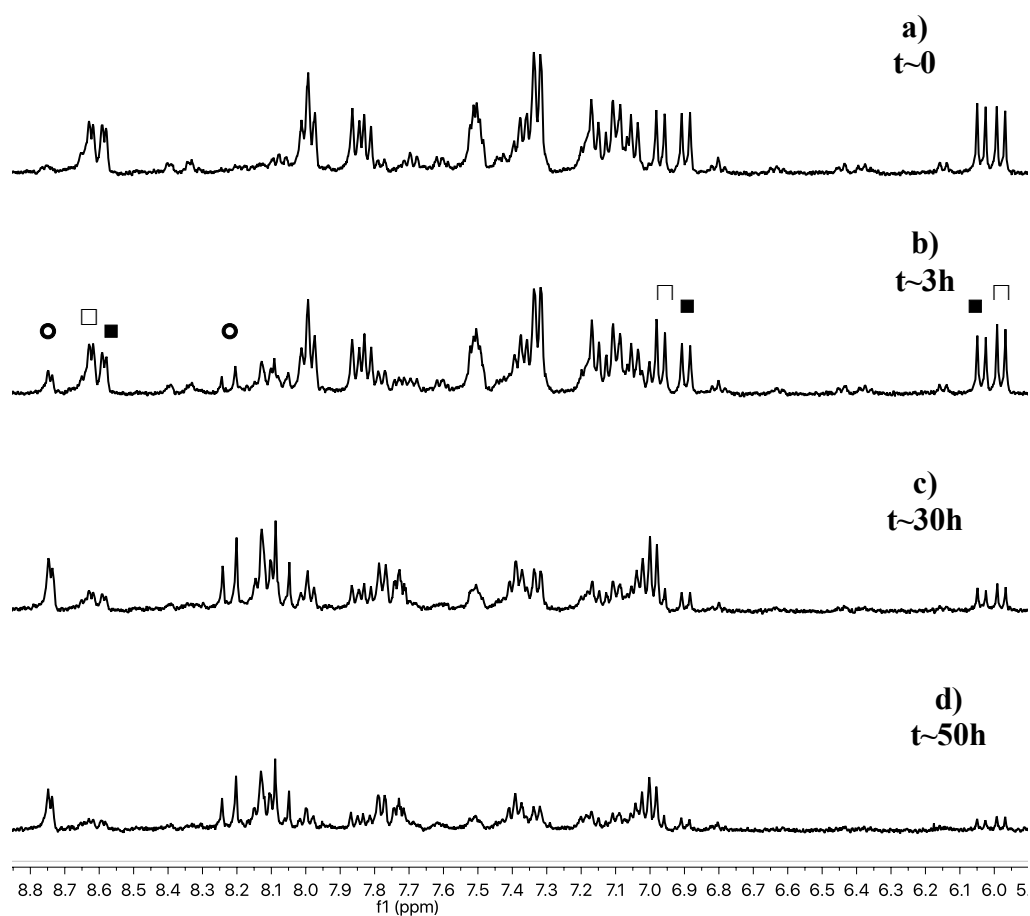
**Figura C. 2:** Evolução de 17 mM de 7NPy4 em  $CD_3OD/D_2O$  (1:1 v/v) a  $pD=0,5$ . **a)** Instante inicial após o salto de  $pD=6,5$  para  $pD=0,5$ . **b) e c)** Estados intermédios  $B^{2+}$  (■),  $Cc^{2+}$  (□),  $Ct^{2+}$  (○) e  $AH^{2+}$  (◆). **d)** Equilíbrio térmico.

A Figura C3 apresenta a evolução seguida por  $^1\text{H}$  RMN de 7NPy4 17 mM em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) após o salto de pD=6,5 para pD=3,6.



**Figura C. 3:** Formação de  $\text{AH}^{2+}$  (◆) a partir de  $\text{Ct}^+$  (○).

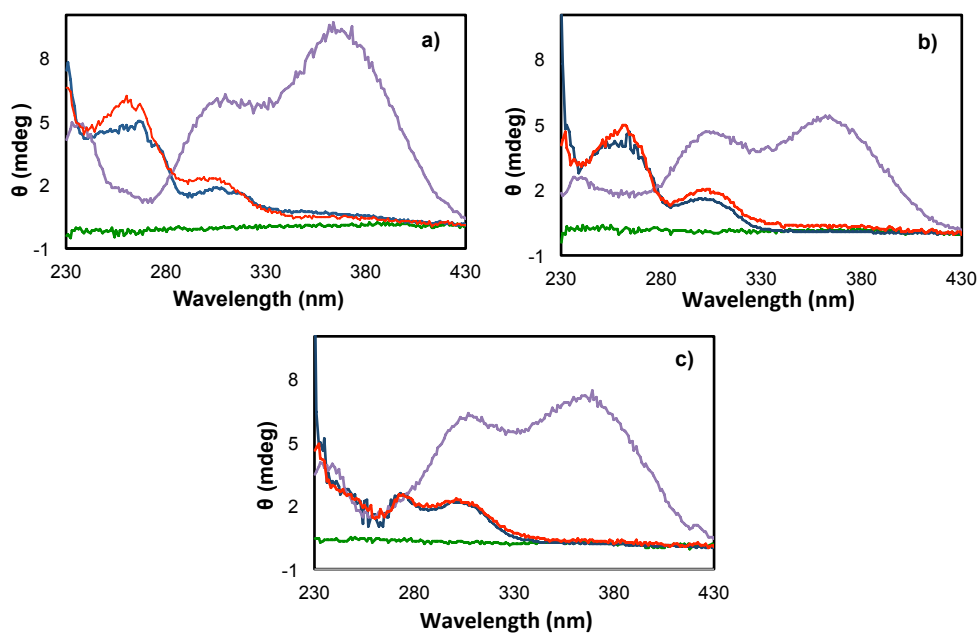
A Figura C4 apresenta a recuperação térmica da Ct seguida por  $^1\text{H}$  RMN após a irradiação a 365 nm durante 1 hora numa solução de Py2 17 mM em  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  (1:1 v/v) a  $\text{pD}=5,6$ .



**Figura C. 4:** Recuperação térmica (no escuro) seguida por  $^1\text{H}$  RMN após a irradiação de 17 mM de Py2. **a)** Estado fotoestacionária composto por 41%B (■), 45%Cc (□) e 14%Ct (○). **b) e c)** Estados intermédios apresentam as espécie envolvidas no processo, B (■), Cc (□) e Ct (○). **d)** Equilíbrio térmico apresenta maioritariamente a Ct.

## Anexo D

A figura apresenta os espectros de dicroísmo circular traçados em cada passo dos esquemas das figuras III.27 e III.28. Roxo representa o dicroísmo circular induzido (CDI) da Ct estado inicial do esquema da figura III.27. Verde solução sem atividade ótica passo 1 do esquema da figura III.28. Azul e vermelho substrato irradiado na ausência e na presença de  $\beta$ -CD, respectivamente. As irradiações foram feitas a 365 nm durante 45 minutos a soluções de  $1,1 \cdot 10^{-4}$  M de substrato em  $\text{CD}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  a pH de 5,5-6,6 e 10 mM de  $\beta$ -CD.



**Figura D. 1:** Espectros de dicroísmo circular dos compostos: a) Py2; b) Py3 e c) Py4.